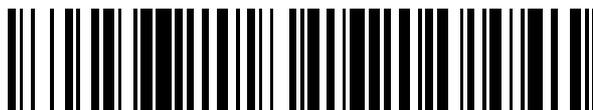


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 666 152**

51 Int. Cl.:

**C07K 14/705** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.08.2010 PCT/US2010/045479**

87 Fecha y número de publicación internacional: **17.02.2011 WO11020024**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.08.2010 E 10744821 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.01.2018 EP 2464661**

54 Título: **Métodos de modulación de la función inmunitaria con anticuerpos anti-B7-H7CR**

30 Prioridad:

**13.08.2009 US 233650 P**  
**23.12.2009 US 289951 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**03.05.2018**

73 Titular/es:

**THE JOHNS HOPKINS UNIVERSITY (100.0%)**  
**100 N. Charles Street**  
**Baltimore, MD 21201, US**

72 Inventor/es:

**CHEN, LIEPING**

74 Agente/Representante:

**LINAGE GONZÁLEZ, Rafael**

**ES 2 666 152 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Métodos de modulación de la función inmunitaria con anticuerpos anti-B7-H7CR

5 Esta invención se realizó, en parte, con el apoyo del gobierno de los Estados Unidos con los números de subvención R01 CA97085 y R01 A172592 de los Institutos Nacionales de Salud (NIH). El gobierno de los Estados Unidos puede tener determinados derechos en esta invención.

### 1. Introducción

10 Se presentan en el presente documento agentes terapéuticos que modulan una o más funciones inmunitarias y usos de tales agentes terapéuticos en la prevención, el tratamiento y la gestión de enfermedades. En un aspecto, los agentes terapéuticos modulan una o más rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a B7-H7CR. En otro aspecto, los agentes terapéuticos modulan la unión de B7-H7 a B7-H7CR. Los agentes terapéuticos  
15 pueden usarse en la prevención, el tratamiento y/o la gestión de enfermedades en las que puede ser útil modular una o más funciones inmunitarias (por ejemplo, cáncer, enfermedad infecciosa, enfermedad autoinmunitaria y rechazo de trasplante).

### 2. Antecedentes

20 La activación de células T es un aspecto importante del sistema inmunitario. La activación de células T se requiere para respuestas inmunitarias específicas contra agentes infecciosos. La activación de células T también desempeña un papel importante en la inmunidad tumoral y en trastornos autoinmunitarios e inflamatorios. La activación de células T se inicia cuando los receptores de antígeno de células T (TCR) de células T reconocen su antígeno (Ag) específico en el contexto de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH). Aunque se requiere transducción de señales de TCR para la activación de células T sin tratamiento previo, la activación de TCR sola no es suficiente para generar una respuesta inmunitaria. Se necesita una señal secundaria, conocida como coestimulación, para la activación óptima de células T sin tratamiento previo. En particular, se requiere la transducción de señales a través del TCR y CD28, conocido como receptor coestimulador, para la activación de  
25 células T sin tratamiento previo. B7-1 (CD80) y B7-2 (CD86), conocidos como moléculas coestimuladoras, son dos ligandos para CD28. B7-1 y B7-2 se expresan normalmente en células presentadoras de antígenos (APC) profesionales. Además de la unión a CD28, B7-1 y B7-2 también se unen al receptor coestimulador conocido como CTLA-4 (CD152) en células T. Otro receptor coestimulador encontrado en células T es ICOS.

35 Las moléculas B7 median en tanto señales positivas como negativas para células T mediante la unión a receptores coestimuladores en células T. CD28 es el receptor más ampliamente estudiado que acepta una señal secundaria de B7-1 (CD80) y B7-2 (CD86, B70) para coestimular células T sin tratamiento previo para su activación completa en presencia de señalización de receptor de células T (Linsley *et al.*, 1990, PNAS USA 87: 5031-5035). Por otro lado, CTLA-4, un homólogo de CD28 expresado en células T activadas y que interactúa con el mismo conjunto de  
40 ligandos, atenúa las respuestas de células T (Krummel *et al.*, 1995, J. Exp. Med. 182: 469-465; Walrus *et al.*, 1994, Immunity 1: 405-413). ICOS, otro homólogo de CD28, se expresa en células T activadas y coestimula la activación de células T tras la unión de un ligando distinto B7-H2 (ICOSLG, GL50, B7RP1, CD275, ICOSL, LICOS) (Hutloff *et al.*, 1999, Nature 397: 263-266; Yoshinaga *et al.*, 1999, Nature 402: 827-832). CD28, CTLA-4 e ICOS forman una agrupación génica estrecha en el cromosoma humano 2q33 y en el cromosoma de ratón 1, lo que sugiere que se originaron mediante una duplicación génica durante la evolución (Swallow *et al.*, 1999, Immunity 11: 423-432). Aunque CD28 e ICOS tienen ligandos distintos, comparten una redundancia funcional significativa incluyendo su capacidad para coestimular el crecimiento, la supervivencia y la diferenciación de células T así como su requisito para la respuesta de anticuerpos (Ling *et al.*, 2000, J. Immunol. 164: 1653-1657; Ling *et al.*, 2001, Genomics 78: 155-168; Dong *et al.*, 2001, Nature 409: 97-101; McAdam *et al.*, 2001, Nature 409: 102-105; Tafuri *et al.*, 2001, Nature 409: 105-109; Linterman *et al.*, 2009, Immunity 30: 228-241). Se ha demostrado que tanto las señales de CD28 como de ICOS coestimulan una matriz de citocinas. Sin embargo, sólo la señal de CD28 induce un alto nivel de IL-2, mientras que ICOS estimula preferentemente IL-10 (Hutloff *et al.*, 1999, Nature 397: 263-266).

55 La modulación de moléculas coestimuladoras y sus receptores permite la modulación de diversas funciones inmunitarias. Los agentes que modulan la interacción entre moléculas coestimuladoras y sus receptores pueden tener un uso beneficioso en una variedad de aplicaciones, incluyendo, por ejemplo, usos terapéuticos y profilácticos y vacunaciones. La presente invención satisface estas y otras necesidades. El documento WO 2007/149067 se refiere a polipéptidos del correceptor PHLA2 y a sus métodos de uso. El documento US 2007/041963 se refiere a polipéptidos humanos secretados útiles para diagnosticar y tratar trastornos relacionados con proteínas humanas secretadas.  
60

### 3. Sumario

65 En otro aspecto, se presentan en el presente documento métodos para modular una o más rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7CR a uno o más de sus ligandos. En una realización específica, se presentan en el presente documento métodos para modular una o más rutas de transducción de señales inducidas

por la unión de B7-H7CR a B7-H7.

Se presentan en el presente documento agentes terapéuticos que se basan, en parte, en el descubrimiento de la interacción receptor-ligando entre B7-H7 y B7-H7CR. Los agentes terapéuticos o composiciones de los mismos pueden usarse en cultivo celular para modular funciones de células inmunitarias (por ejemplo, proliferación de linfocitos, producción de citocinas o producción de anticuerpos). En particular, una célula puede ponerse en contacto con un agente terapéutico para modular una o más funciones de células inmunitarias. Además, pueden administrarse agentes terapéuticos a un sujeto para prevenir, tratar o gestionar determinadas enfermedades, tales como cáncer, una enfermedad infecciosa, una enfermedad autoinmunitaria, una enfermedad inflamatoria y rechazo de trasplante.

En determinadas realizaciones, se presentan en el presente documento composiciones farmacéuticas que comprenden un agente terapéutico, y un portador farmacéuticamente aceptable. En realizaciones específicas, el agente terapéutico está presente en la composición farmacéutica en una cantidad eficaz para modular la proliferación de linfocitos T, modular una o más funciones inmunitarias, o para prevenir, tratar o gestionar cáncer, una enfermedad infecciosa, un trastorno autoinmunitario, un trastorno antiinflamatorio, enfermedad de injerto contra huésped o rechazo de trasplante de órgano. En algunas realizaciones, se presentan en el presente documento métodos para modular la proliferación de linfocitos T, modular una o más funciones inmunitarias, o prevenir, tratar o gestionar cáncer, una enfermedad infecciosa, un trastorno autoinmunitario, un trastorno antiinflamatorio, enfermedad de injerto contra huésped, o rechazo de trasplante de órgano utilizando una cantidad eficaz de agente terapéutico.

En una realización, se proporciona una composición farmacéutica que comprende: (a) un anticuerpo que se une específicamente a B7-H7CR definido por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 en una cantidad eficaz para modular la interacción entre B7-H7 y B7-H7CR, en la que la unión del anticuerpo a B7-H7CR agoniza la interacción entre B7-H7 definido por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 y B7-H7CR, y potencia la proliferación de linfocitos T; y (b) un portador farmacéuticamente aceptable.

En otra realización, se proporciona una composición farmacéutica que comprende: (a) un anticuerpo que se une específicamente a B7-H7CR definido por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 en una cantidad eficaz para modular la interacción entre B7-H7 y B7-H7CR, en la que la unión del anticuerpo a B7-H7CR antagoniza la interacción entre B7-H7 definido por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 y B7-H7CR, e inhibe la proliferación de linfocitos T; y (b) un portador farmacéuticamente aceptable.

### 3.1 TERMINOLOGÍA

Tal como se usa en el presente documento, el término “anómalo” en el contexto de expresión de un agente proteínico se refiere a un agente proteínico para el cual la expresión aumenta o disminuye en al menos el 5%, el 10%, el 20%, el 25%, el 50%, el 75%, el 85%, el 90%, o el 95%, o del 5% al 10%, del 5% al 25%, del 10% al 25%, del 10% al 50%, del 25% al 75%, del 50% al 75%, del 50% al 95%, del 75% al 95% con respecto a la expresión del agente proteínico por un sujeto o población normal (por ejemplo, 5 o más sujetos normales).

Tal como se usa en el presente documento, los términos “alrededor de” y “aproximadamente”, cuando se usan para modificar un valor numérico o intervalo numérico, indican que las desviaciones del 5% al 15% por encima y del 5% al 15% por debajo del valor o intervalo permanecen dentro del significado previsto del valor o intervalo citado.

Tal como se usa en el presente documento, el término “agonista(s)” se refiere a una(s) molécula(s) que se une(n) a otra molécula e induce(n) una reacción biológica. En una realización específica, un agonista es una molécula que se une a un receptor en una célula y desencadena una o más rutas de transducción de señales. Por ejemplo, un agonista incluye un anticuerpo o ligando que se une a un receptor en una célula e induce una o más rutas de transducción de señales. En determinadas realizaciones, el anticuerpo o ligando se une a un receptor en una célula, induce una o más rutas de transducción de señales, y bloquea o evita que un ligando nativo del receptor se una al receptor. En determinadas realizaciones, un agente terapéutico es un agonista de la transducción de señales normalmente mediada mediante la unión de un ligando nativo (por ejemplo, B7-H7) a B7-HCR.

Tal como se usa en el presente documento, el término “agente(s) terapéutico(s) inmuoestimulante(s)” se refiere a un/unos agente(s) terapéutico(s) que induce(n), activa(n) o potencia(n) una o más respuestas o funciones inmunitarias.

Tal como se usa en el presente documento, el término “antagonista(s)” se refiere a una(s) molécula(s) que inhibe(n) la acción de otra molécula sin provocar una respuesta biológica en sí misma. En una realización específica, un antagonista es una molécula que se une a un receptor en una célula y bloquea o atenúa la actividad biológica de un agonista. Por ejemplo, un antagonista incluye un anticuerpo o ligando que se une a un receptor en una célula y bloquea o atenúa la unión del ligando nativo a la célula sin inducir una o más rutas de transducción de señales. Otro ejemplo de un antagonista incluye un anticuerpo o receptor soluble que compite con el receptor nativo en células por la unión al ligando nativo, y por tanto, bloquea o atenúa una o más rutas de transducción de señales inducidas cuando el receptor nativo se une al ligando nativo. En determinadas realizaciones, un agente terapéutico es un

antagonista de la transducción de señales normalmente mediada mediante la unión de un ligando nativo (por ejemplo, B7-H7) a B7-HCR.

5 Tal como se usa en el presente documento, el término “agente(s) terapéutico(s) inhibidor(es)” se refiere a un/unos agente(s) terapéutico(s) que suprime(n) o reduce(n) una o más respuestas o funciones inmunitarias.

10 Tal como se usa en el presente documento, los términos “anticuerpo” y “anticuerpos” se refieren a moléculas que contienen un sitio de unión a antígeno, por ejemplo, inmunoglobulinas. Los anticuerpos incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos monoclonales, anticuerpos biespecíficos, anticuerpos multiespecíficos, anticuerpos humanos, anticuerpos humanizados, anticuerpos sintéticos, anticuerpos quiméricos, anticuerpos policlonales, anticuerpos de un único dominio, anticuerpos camelizados, Fv de cadena sencilla (scFv), anticuerpos de cadena sencilla, fragmentos Fab, fragmentos F(ab'), Fv biespecíficos unidos por disulfuro (sdFv), intracuerpos y anticuerpos antiidiotípicos (anti-Id) (incluyendo, por ejemplo, anticuerpos anti-Id y anti-anti-Id frente a anticuerpos), y fragmentos de unión a epítipo de cualquiera de los anteriores. En particular, los anticuerpos incluyen moléculas de inmunoglobulina y fragmentos inmunológicamente activos de moléculas de inmunoglobulina. Las moléculas de inmunoglobulina pueden ser de cualquier tipo (por ejemplo, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA e IgY), clase (por ejemplo, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub>, IgG<sub>4</sub>, IgA<sub>1</sub> e IgA<sub>2</sub>) o subclase. En una realización específica, un anticuerpo es un anticuerpo monoclonal humano o humanizado.

20 Tal como se usa en el presente documento y a menos que se especifique lo contrario, el término “B7-H7” se refiere o bien a un B7-H7 nativo, a un derivado de B7-H7, o bien a ambos.

25 Tal como se usa en el presente documento y a menos que se especifique lo contrario, el término “polipéptido de B7-H7” se refiere o bien a un B7-H7 nativo, a un derivado de B7-H7, o bien a ambos.

30 Tal como se usa en el presente documento y a menos que se especifique lo contrario, el término “B7-H7CR” se refiere o bien a un B7-H7CR nativo, a un derivado de B7-H7CR, o bien a ambos.

35 Tal como se usa en el presente documento y a menos que se especifique lo contrario, el término “polipéptido de B7-H7CR” se refiere o bien a un B7-H7CR nativo, a un derivado de B7-H7CR, o bien a ambos.

40 Tal como se usa en el presente documento y a menos que se especifique lo contrario, los términos “complejo de B7-H7/B7-H7CR” y “complejo de B7-H7CR/B7-H7” se refieren a complejos formados como resultado de la interacción entre un B7-H7 nativo y un B7-H7CR nativo, un B7-H7 nativo y un derivado de B7-H7CR, un derivado de B7-H7 y un B7-H7CR nativo, o un derivado de B7-H7 y un derivado de B7-H7CR.

45 Tal como se usa en el presente documento, el término “derivado” en el contexto de proteínas o polipéptidos se refiere a: (a) un polipéptido que es al menos el 40%, el 45%, el 50%, el 55%, el 60%, el 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o es del 40% al 65%, del 50% al 90%, del 65% al 90%, del 70% al 90%, del 75% al 95%, del 80% al 95% o del 85% al 99% idéntico a un polipéptido nativo; (b) un polipéptido codificado por una secuencia de ácido nucleico que es al menos el 40%, el 45%, el 50%, el 55%, el 60%, el 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o es del 40% al 65%, del 50% al 90%, del 65% al 90%, del 70% al 90%, del 75% al 95%, del 80% al 95% o del 85% al 99% idéntica a una secuencia de ácido nucleico que codifica para un polipéptido nativo; (c) un polipéptido que contiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más, o de 2 a 5, de 2 a 10, de 5 a 10, de 5 a 15, de 5 a 20, de 10 a 15 o de 15 a 20 mutaciones de aminoácido (es decir, adiciones, deleciones y/o sustituciones) en relación con un polipéptido nativo; (d) un polipéptido codificado por una secuencia de ácido nucleico que puede hibridarse en condiciones de hibridación de rigurosidad alta, moderada o típica con una secuencia de ácido nucleico que codifica para un polipéptido nativo; (e) un polipéptido codificado por una secuencia de ácido nucleico que puede hibridarse en condiciones de hibridación de rigurosidad alta, moderada o típica con una secuencia de ácido nucleico que codifica para un fragmento de un polipéptido nativo de al menos 20 aminoácidos contiguos, al menos 30 aminoácidos contiguos, al menos 40 aminoácidos contiguos, al menos 50 aminoácidos contiguos, al menos 75 aminoácidos contiguos, al menos 100 aminoácidos contiguos, al menos 125 aminoácidos contiguos, al menos 150 aminoácidos contiguos, o de 20 a 50, de 25 a 75, de 25 a 100, de 25 a 150, de 50 a 75, de 50 a 100, de 75 a 100, de 50 a 150, de 75 al 150, de 100 a 150, o de 100 a 200 aminoácidos contiguos; o (f) un fragmento de un polipéptido nativo. Los derivados también incluyen un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de una forma madura que se produce de manera natural de un polipéptido de mamífero y una secuencia de aminoácidos de péptido señal heterólogo. Además, los derivados incluyen polipéptidos que se han modificado químicamente mediante, por ejemplo, glicosilación, acetilación, pegilación, fosforilación, amidación, derivatización mediante grupos protectores/de bloqueo conocidos, escisión proteolítica, unión a un ligando celular u otro resto de proteína, etc. Además, los derivados incluyen polipéptidos que comprenden uno o más aminoácidos no clásicos. En una realización, un derivado se aísla o se purifica. En realizaciones específicas, un derivado conserva una o más funciones del polipéptido nativo del que se derivó.

65 El porcentaje de identidad puede determinarse usando cualquier método conocido por un experto en la técnica. En una realización específica, el porcentaje de identidad se determina usando el programa “Best Fit” o “Gap” del

paquete de software de análisis de secuencias (versión 10; Genetics Computer Group, Inc., University of Wisconsin Biotechnology Center, Madison, Wisconsin). Se ha descrito información referente a las condiciones de hibridación (por ejemplo, condiciones de rigurosidad alta, moderada y típica), véase, por ejemplo, la publicación de solicitud de patente estadounidense n.º US 2005/0048549 (por ejemplo, párrafos 72-73).

5 Tal como se usa en el presente documento, los términos “enfermedad” y “trastorno” se usan de manera intercambiable para referirse a un estado, en particular, un estado patológico.

10 Tal como se usa en el presente documento, el término “ser humano anciano” se refiere a un ser humano de 65 años o más.

15 Tal como se usa en el presente documento, el término “cantidad eficaz” en el contexto de la administración de una terapia a un sujeto se refiere a la cantidad de una terapia que logra un efecto profiláctico o terapéutico deseado. Se proporcionan ejemplos de cantidades eficaces en la sección 5.8.2, a continuación.

20 Tal como se usa en el presente documento, el término “fragmento” en el contexto de una secuencia de nucleótidos se refiere a una secuencia de nucleótidos que comprende una secuencia de ácido nucleico de al menos 5 bases de ácido nucleico contiguas, al menos 10 bases de ácido nucleico contiguas, al menos 15 bases de ácido nucleico contiguas, al menos 20 bases de ácido nucleico contiguas, al menos 25 bases de ácido nucleico contiguas, al menos 40 bases de ácido nucleico contiguas, al menos 50 bases de ácido nucleico contiguas, al menos 60 bases de ácido nucleico contiguas, al menos 70 bases de ácido nucleico contiguas, al menos 80 bases de ácido nucleico contiguas, al menos 90 bases de ácido nucleico contiguas, al menos 100 bases de ácido nucleico contiguas, al menos 125 bases de ácido nucleico contiguas, al menos 150 bases de ácido nucleico contiguas, al menos 175 bases de ácido nucleico contiguas, al menos 200 bases de ácido nucleico contiguas, al menos 250 bases de ácido nucleico contiguas, al menos 300 bases de ácido nucleico contiguas, al menos 400 bases de ácido nucleico contiguas, o al menos 500 bases de ácido nucleico contiguas, o en el intervalo de entre 5 y 25 bases de ácido nucleico contiguas, 5 y 50 bases de ácido nucleico contiguas, 5 y 100 bases de ácido nucleico contiguas, 25 y 50 bases de ácido nucleico contiguas, 25 y 75 bases de ácido nucleico contiguas, 25 y 100 bases de ácido nucleico contiguas, 25 y 150 bases de ácido nucleico contiguas, 25 y 200 bases de ácido nucleico contiguas, 25 y 250 bases de ácido nucleico contiguas, 50 y 250 bases de ácido nucleico contiguas, 50 y 300 bases de ácido nucleico contiguas, 50 y 500 bases de ácido nucleico contiguas, 100 y 250 bases de ácido nucleico contiguas, 100 y 500 bases de ácido nucleico contiguas o 250 y 500 bases de ácido nucleico contiguas de la secuencia de nucleótidos del gen de interés, por ejemplo, el gen de B7-H2, B7-H7, ICOS, B7-H7CR, CD28 o CTLA-4 o la región codificante de los mismos. El ácido nucleico puede ser ARN, ADN, o una variante químicamente modificada del mismo. En una realización específica, el fragmento es un fragmento del gen de B7-H2, B7-H7, ICOS, B7-H7CR, CD28 o CTLA-4. En otra realización específica, el fragmento es un fragmento de la región codificante del gen de B7-H2, B7-H7, ICOS, B7-H7CR, CD28 o CTLA-4. En determinadas realizaciones, el fragmento de la secuencia de ácido nucleico de interés codifica para un polipéptido que conserva una o más funciones del polipéptido codificado por la secuencia de ácido nucleico de interés, es decir, es un fragmento funcional. Por ejemplo, el polipéptido conserva la capacidad de interactuar con otra proteína o de inducir una o más rutas de transducción de señales.

45 Tal como se usa en el presente documento, el término “fragmento” en el contexto de un fragmento de un agente proteínico (por ejemplo, una proteína) se refiere a un fragmento que es de 8 o más aminoácidos contiguos, 10 o más aminoácidos contiguos, 15 o más aminoácidos contiguos, 20 o más aminoácidos contiguos, 25 o más aminoácidos contiguos, 50 o más aminoácidos contiguos, 75 o más aminoácidos contiguos, 100 o más aminoácidos contiguos, 150 o más aminoácidos contiguos, 200 o más aminoácidos contiguos, o en el intervalo de entre 10 y 300 aminoácidos contiguos, 10 y 200 aminoácidos contiguos, 10 y 250 aminoácidos contiguos, 10 y 150 aminoácidos contiguos, 10 y 100 aminoácidos contiguos, 10 y 50 aminoácidos contiguos, 50 y 100 aminoácidos contiguos, 50 y 150 aminoácidos contiguos, 50 y 200 aminoácidos contiguos, 50 y 250 aminoácidos contiguos, 50 y 300 aminoácidos contiguos, 25 y 50 aminoácidos contiguos, 25 y 75 aminoácidos contiguos, 25 y 100 aminoácidos contiguos o 75 y 100 aminoácidos contiguos de un agente proteínico, por ejemplo, polipéptidos de B7-H7, B7-H7CR, B7-H2, ICOS, CD28 o CTLA-4. En una realización específica, un fragmento de un agente proteínico conserva una o más funciones del agente proteínico, es decir, es un fragmento funcional. Por ejemplo, un fragmento de un agente proteínico conserva la capacidad de interactuar con otra proteína o de inducir una o más rutas de transducción de señales.

60 Tal como se usa en el presente documento, el término “fragmento funcional”, en el contexto de un agente proteínico, se refiere a una porción de un agente proteínico que conserva una o más actividades o funciones del agente proteínico. Por ejemplo, un fragmento funcional de un polipéptido de B7-H7 puede conservar la capacidad de unirse a uno o más de sus receptores (por ejemplo, B7-H7CR) y/o inducir o activar una o más rutas de transducción de señales mediadas por la unión del polipéptido de B7-H7 a uno o más de sus receptores (por ejemplo, B7-H7CR).

65 Tal como se usa en el presente documento, el término “heterólogo” se refiere a una entidad que no se halla en la naturaliza asociada con otra entidad.

Tal como se usa en el presente documento, el término “adulto humano” se refiere a un ser humano que tiene 18

años o más.

Tal como se usa en el presente documento, el término “niño humano” se refiere a un ser humano que tiene de 1 año a 18 años.

5 Tal como se usa en el presente documento, el término “lactante humano” se refiere a un ser humano recién nacido a de 1 año.

10 Tal como se usa en el presente documento y a menos que se especifique lo contrario, el término “ICOS” se refiere o bien a ICOS nativo, a un derivado de ICOS, o bien a ambos.

Tal como se usa en el presente documento y a menos que se especifique lo contrario, el término “polipéptido de ICOS” se refiere o bien a ICOS nativo, a un derivado de ICOS, o bien a ambos.

15 Tal como se usa en el presente documento, los términos “se une inmuno específicamente”, “reconoce inmuno específicamente”, “se une específicamente” y “reconoce específicamente” son términos análogos en el contexto de anticuerpos y se refieren a moléculas que se unen específicamente a un antígeno (por ejemplo, epítipo o complejo inmunitario) tal como entiende un experto en la técnica. Una molécula que se une específicamente a un antígeno puede unirse a otros péptidos o polipéptidos con menor afinidad tal como se determina mediante, por ejemplo, inmunoensayos (por ejemplo, ELISA), resonancia de plasmón superficial (por ejemplo, BIAcore®), un ensayo KinEx (usando, por ejemplo, un instrumento KinExA 3000 (Sapidyne Instruments, Boise, ID)), u otros ensayos conocidos en la técnica. En una realización específica, las moléculas que se unen específicamente a un antígeno se unen al antígeno con una constante de disociación (es decir,  $K_a$ ) que es al menos de 2 log, 2,5 log, 3 log, 3,5 log, 4 log o mayor que la  $K_a$  cuando las moléculas se unen a otro antígeno. En otra realización específica, las moléculas que se unen específicamente a un antígeno no reaccionan de manera cruzada con otras proteínas.

30 Tal como se usa en el presente documento, el término “en combinación” se refiere al uso de más de una terapia (por ejemplo, uno o más agentes profilácticos y/o terapéuticos). El uso del término “en combinación” no limita el orden en el que se administran las terapias a un sujeto con una enfermedad o trastorno, o la vía de administración. Puede administrarse una primera terapia (por ejemplo, un agente profiláctico o terapéutico) antes de (por ejemplo, 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 8 semanas o 12 semanas antes), de manera concomitante con, o posterior a (por ejemplo, 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 8 semanas o 12 semanas después) la administración de una segunda terapia (por ejemplo, un agente profiláctico o terapéutico) a un sujeto con una enfermedad o trastorno o un síntoma de los mismos.

40 Tal como se usa en el presente documento, los términos “gestionar” “que gestiona” y “gestión”, en el contexto de la administración de una terapia a un sujeto, se refieren a los efectos beneficiosos que un sujeto obtiene de una terapia, que no da como resultado la cura de una enfermedad. En determinadas realizaciones, a un sujeto se le administran una o más terapias para “gestionar” una enfermedad o trastorno para prevenir la evolución o el empeoramiento de los síntomas asociados con una enfermedad.

45 Tal como se usa en el presente documento, el término “B7-H7 nativo” en el contexto de proteínas o polipéptidos se refiere a cualquier secuencia de aminoácidos de B7-H7 que se produce de manera natural, incluyendo formas maduras e inmaduras o precursoras. Los ejemplos no limitativos de los n.ºs de registro para la secuencia de aminoácidos de B7-H7 de mamífero nativo incluyen: O9UM44-1 (*Homo sapiens*), NP\_009003 (GI: 5901964, *Homo sapiens*) y AAD48396 (GI: 15726285, *Homo sapiens*). Se proporciona una secuencia de aminoácidos representativa de la forma inmadura/precursora de B7-H7 humano nativo, que comprende el péptido señal (subrayado) y el B7-H7 nativo humano maduro (la secuencia de aminoácidos tras el péptido señal):

MKAQTALSFFLILITSLSGSQGIFPLAFFIYVPMNEQIVIGRLDEDIILPSSFERGSEVVI  
**HWKYQDSYKVHSYYKGS****DHLESQDPRYANRTSLFYNEIQNGNASLFFRRVSLLD**  
**EGIYTCYVGTAIQVITNKVVLKVG****VFLTPVMKYEKRNTNSFLICSVLSVYPRPIITWKMD**  
**NTPISENNMEETGSLDSFSINSPLNITGSNSSYECTIENSLLKQ****TWTGRWTMKDGLH**  
**KMQSEHVSLSCQPVNDYFSPNQDFKVTWSRMKSGTFSVLAYYLS****SSQNTIINESR**  
**FSWNKELINQSDFSMNLMDLNLSDSCEYLCNISSDEYTL****LLTIHTVHVEPSQETASH**  
**NKGLWILVPSAILAAFLLIWSVKCCRAQLEARRSRHPADGAQ****QERCCVPPGERCPS**  
**APDNGEENVPLSGKV**

55 (SEQ ID NO: 3).

En algunas realizaciones, B7-H7 nativo es la forma inmadura o precursora de un B7-H7 de mamífero que se produce de manera natural. En otras realizaciones, B7-H7 nativo es la forma madura de un B7-H7 de mamífero que se produce de manera natural. En una realización específica, B7-H7 nativo es la forma precursora de B7-H7 humano que se produce de manera natural. En otra realización, B7-H7 nativo es la forma madura de B7-H7 humano que se produce de manera natural. En una realización, la proteína/el polipéptido de B7-H7 nativo se aísla o se purifica.

El polipéptido de B7-H7 humano se denomina de otro modo proteína 2 de asociación a repetición terminal larga retrovirus endógeno humano-H (HHLA2) en la bibliografía/bases de datos pero la función de B7-H7 no se identificó previamente. El polipéptido de B7-H7 humano tiene 414 aminoácidos de longitud y se ha notificado que contiene lo siguiente: una secuencia señal, un dominio extracelular, 3 dominios de tipo inmunoglobulina (tipo Ig), un dominio transmembrana y un dominio citoplasmático. En particular, se ha notificado que el polipéptido de B7-H7 humano contiene un dominio 1 de tipo V de tipo Ig, un dominio de tipo C-1 de tipo Ig y un dominio 2 de tipo V de tipo Ig. Se ha notificado que el B7-H7 humano contiene lo siguiente: una secuencia señal en los residuos de aminoácido 1 a 22 de la secuencia en el n.º de registro O9UM44-1, un dominio 1 de tipo V de tipo Ig en los residuos de aminoácido 61 a 131 de la secuencia en el n.º de registro O9UM44-1, un dominio de tipo C-1 de tipo Ig en los residuos de aminoácido 138 a 222 de la secuencia en el n.º de registro O9UM44-1, un dominio 2 de tipo V de tipo Ig en los residuos de aminoácido 235 a 328 de la secuencia en el n.º de registro O9UM44-1 y un dominio transmembrana en los residuos de aminoácido 345 a 365 de la secuencia en el n.º de registro O9UM44-1. La superficie de contacto de dímero predicha para el polipéptido de B7-H7 humano son los residuos de aminoácido 141-144, 156, 158, 160, 162, 193-196, 198, 200, 201, 224 y 225. Los sitios de glicosilación con unión a N predichos para el polipéptido de B7-H7 humano se encuentran en los residuos de aminoácido 90, 103 y 318. Las variaciones naturales de polipéptido de B7-H7 humano incluyen I30T, N344K y S346R (UniProt Q9UM44). Con respecto a SEQ ID NO: 3 anterior, el péptido señal notificado está subrayado (péptido señal), los dominios de IgV están en negrita (**dominios de IgV**), el dominio de IgC está en cursiva (*dominio de IgC*), el solapamiento de dominios de IgV/IgC está en cursiva (*solapamiento de IgV/IgC*), el dominio transmembrana está subrayado y en negrita (**dominio transmembrana**). Los dominios de Ig de B7-H7 humano comprenden un par de cisteínas conservadas que pueden formar un enlace disulfuro. Los residuos de Cys en las posiciones 159 y 210 del dominio de IgC pueden formar tales enlaces disulfuro. Los residuos de Cys en las posiciones 243 y 317 del segundo dominio IgV pueden formar tales enlaces disulfuro.

Se proporciona una secuencia de aminoácidos representativa de la forma inmadura/precursora de B7-H7 de *Pan troglodytes* nativo, que comprende el péptido señal (subrayado) y el B7-H7 de *Pan troglodytes* nativo (la secuencia de aminoácidos tras el péptido señal):

MKAQTALSFFLILITSLSGSQAIFPMAFSTYVPVNEQIVIGRLDEDIILPSSFERGSEVV  
**IHWKYQDSYK VHSYYKGS****SDHLESQDPRYTNRTSLFYNEIQGNASLFS****PRVSL****LDE**  
*GIYTCYVGTAIQVITNKVVLKVG***VFLTPV****IIKYEKRNTNSFLICSVLSVYPRPIITWKMDN**  
**TPISENNMEETGSLDSFSINSPLNITGSN****SSYECTIENSLLKQTWTGRWTMKDGLHK**  
**MQSEHVSLS****QPVNDYFSPNQDFICVTWSRMKSGTFSILAYYLSSSQNTIINESRFS**  
**WNKELINQSDFSMNLIVIDLNLSDSGEYLCNISSDEVTL****LTIHTVHV****EPSQETASHN**  
KGLWILVPSVILAAFLLIWTVKRCRAQPEARRSRHPADGAQQERYCVPPGEHCPSA  
 PDNGEENVRSVSGKV (SEQ ID NO:17)

Con respecto a SEQ ID NO: 17, la señal notificada está subrayada (péptido señal), los dominios de IgV están en negrita (**dominios de IgV**), el dominio de IgC está en cursiva y en negrita (*dominio de IgC*), el solapamiento de IgV/IgC está en cursiva (*solapamiento de IgV/IgC*), y el dominio transmembrana está subrayado y en negrita (**dominio transmembrana**).

Se proporciona una secuencia de aminoácidos representativa de la forma inmadura/precursora de B7-H7 de *Macaca mulatta* nativo, que comprende el péptido señal (subrayado) y el B7-H7 de *Macaca mulatta* nativo (la secuencia de aminoácidos tras el péptido señal):

MKAQTSFFLILISSLSGSQGIFLSAFFTYVPMNEQIIIGRLGEDIILPSSFERGSEVVIH  
**WKYQDSYNSYNVHSYYKGS****GRLESQDTRYANRTSLFYNEIQGNASLFFRRLSL**  
*LDEGIYTCYVGTAIQAITNKVVLKVG***VFLTPMMKYEKRNTNSFLICNVLSVYPRPHTWK**  
**MDNTPISENNMQETGSLGPF****SINSTLNITGSN****SSYECTIENSLLKQTWTGRWTMKDG**  
**LHKMQSEHVSLS****CELVNDYFSPNQDFKVTWSRMESGISSILAYYLSSSQNTTFYE**  
**SRFSWNKELKNQSDFSMNLTDLSLSDSGEYLCNISSDEYTL****LTIHTVHV****EPSQETA**  
 SDNKGLWILVASLILVLCLIWLIWKVKCSTAQIEARRSRYPADGAQ (SEQ ID NO:18)

Con respecto a SEQ ID NO: 18, la señal notificada está subrayada (péptido señal), los dominios de IgV están en negrita (**dominios de IgV**), el dominio de IgC está en cursiva y en negrita (*dominio de IgC*), el solapamiento de

IgV/IgC está en cursiva (*dominio de IgV/IgC*), y el dominio transmembrana está subrayado y en negrita (**dominio transmembrana**).

5 Se proporciona una secuencia de aminoácidos representativa que comprende una secuencia parcial del B7-H7 bovino nativo:

MNEQTVTGR LGEDVILPCSFESGPNVVTHWKNQDTNVVSY YRDS DQLEKQDPRYVN  
 RISLFHGEIHNGNASLSFRRLTLQDEGIYVCYVGTSLGKITKKIVLKVGFVTPVMKY  
 EKNTTNSFLICNVLSVFPYPIITWKVDNNTSISENNGKEVGS L GPFHINSRVNITGSNSS  
 YQCEIENPLLKQTWTGRWTRKDKERNTKRKEMHLQSSLEV K QIFSVNLHTVDLQYY  
 FSIK (**SEQ ID NO:19**)

10 La figura 23 muestra una alineación de las secuencias de aminoácidos de B7-H7 humano nativo representativo, B7-H7 de *Pan troglodytes* nativo y B7-H7 de *Macaca mulatta* nativo.

15 Tal como se usa en el presente documento, los términos “B7-H7 nativo” en el contexto de ácidos nucleicos se refieren a cualquier secuencia de ácido nucleico que se produce de manera natural que codifica para B7-H7, incluyendo las formas maduras e inmaduras o precursoras. Los ejemplos no limitativos de n.ºs de registro para la secuencia de nucleótidos de B7-H7 de mamífero nativo incluyen: BC035971 (GI:23272002; *Homo sapiens*) y AK126162 (GT:5726284; *Homo sapiens*). Se proporciona una secuencia de nucleótidos representativa que codifica para la forma inmadura/precursora de B7-H7 humano nativo, que comprende la secuencia de nucleótidos que codifica para el péptido señal (subrayado) y la secuencia de nucleótidos que codifica para el B7-H7 nativo humano maduro (en cursiva):

20

1	agttctcttc	aagtcatgta	atcgactttt	ttgaattagt	tttcagtttc	atcttgcttt
61	ccctaattca	agttgggaac	acttcatttt	ccccaattca	agttgggaac	acttccttgg

ES 2 666 152 T3

121	tatttcctg	ctacatggac	tttagcaaat	gctactttac	tctccttcca	gctactcagg
181	aggctgagcc	aggagaatcg	cttgaacccg	ggaggcggag	gttacagtga	gccttttct
241	agttttactg	ttggaagcct	aactcacagg	agagattatg	caatacagtc	ctgaagtcaa
301	ggaaggagag	catgtaggag	aatactaacc	ctgcacagat	tgtgatggtg	atgtggaata
361	tactaaagcc	tagaacgcac	ctcctctgca	tgactaatat	gttctgcaca	agacatgaag
421	gcacagacag	cactgtcttt	cttctctatt	ctcataacat	ctctgagtgg	atctcaagcc
481	atattccctt	tggctttctt	catttatggt	cctatgaatg	aacaaatcgt	cattggaaga
541	cttgatgaag	aiataattct	cccttcttca	tttgagaggg	gatccgaagt	cgtaaaiacac
601	tggaagtatc	aagatagcta	taaggttcat	agttactaca	aaggcagtga	ccatttggaa
661	agccaagatc	ccagalatgc	aaacaggaca	tcccttttct	ataatgagat	tcaaaatggg
721	aatgcgtcac	tattttcag	aagagtaagc	cttctggacg	aaggaattta	cacctgetat
781	gtaggaacag	caattcaagt	gattacaaac	aaagtgtgct	taaaggtggg	agttttctc
841	acacccgtga	tgaagtatga	aaagaggaac	acaaacagct	tcttaatatg	cagcgtgta
901	agtgtttatc	ctcgtccaat	tatcacgtgg	aaaatggaca	acacacat	ctctgaaaac
961	aacatggaag	aaacagggtc	tttgattct	tttctatia	acagcccact	gaatattaca
1021	ggatcaaat	catcttatga	atgtacaatt	gaaaattcac	tgtgaagca	aacatggaca
1081	gggcgctgga	cgatgaaga	tggccttcat	aaaatgcaaa	gtgaacacgt	ttaacttca
1141	tgtcaacctg	taaatgatta	ttttcacca	aaccaagact	tcaaagttac	ttggtccaga
1201	atgaaaagtg	ggactttctc	tgtcctggct	tactatctga	gctctcaca	aaatacaatt
1261	atcaatgaat	cccgattctc	atggaacaaa	gagctgataa	accagagtga	cttctctatg
1321	aattgatgg	atcttaatct	ttcagacagt	ggggaatatt	tatgcaatat	ttctcggat
1381	gaatataact	tacttaccat	ccacacagtg	catgtagaac	cgagccaaga	aacagcttcc
1441	cataacaaag	gcttatggat	tttgggtccc	ctcgcgattt	tggcagcttt	tctgctgatt
1501	tggagcgtaa	aatgttgcag	agcccagcta	gaagccagga	ggagcagaca	ccctgctgat
1561	ggagcccaac	agaagaagat	ttgtgtccct	cctggtgagc	gctgtcccag	tgcacccgat
1621	aatgcgcaag	aaaatgtgcc	tcttcagga	aaagtatagg	aaatgagaga	agactgtgac
1681	aactcatgac	ctgcatcctt	aataccagt	gacttcatct	cccccttctt	caccacaatt
1741	ccaggcaatg	gcctgtcggg	ccagacaatt	ctaccactgc	aaagagtgtg	aaccatttc
1801	tggatcacaca	tttatttttc	aagacatact	ttcaagaca	tcaftcactg	accactacc
1861	tgcattgagt	ataaatgcct	ggatgtaag	gattccaatt	taactttgaa	aagaactgtc
1921	tcattcattt	acatttctgt	tacagtcagc	ccaggaggtt	acagtgagct	ctccactaag
1981	aatctggaag	aaatgcatca	ctaggggttg	attccaatc	tgateaactg	ataatgggtg
2041	agagagcagg	taagagccaa	agtcacctta	gtggaaggt	taaaaaccag	agcctggaaa
2101	ccaagatgat	tgatitgaca	aggtatttta	gtctagtttt	atatgaacgg	ttgtatcagg
2161	gtaaccaact	cgatttggga	tgaatcttag	ggcaccaaaag	actaagacag	tatctttaag
2221	attgctaggg	aaaagggccc	tatgtgtcag	gcctctgagc	ccaagccaag	catcgcctcc
2281	cctgtgattt	gcacgtatac	atccagatgg	cctaaagtaa	ctgaagatcc	acaaaagaag
2341	taaaaatagc	cttaactgat	gacattccac	cattgtgatt	tgttctgcc	ccaccctaac
2401	tgatcaatgt	actttgtaat	ctccccacc	cttaagaagg	tactttgtaa	tcttccccac
2461	ccftaagaag	gttctttgta	attctcccca	cccttgagaa	tgtactttgt	gagatccacc
2521	ctgcccacaa	aacattgctc	ttaacttca	cgctaacc	aaaacctata	aciaactaatg
2581	ataatccatc	acccttgcct	gactctcttt	tcggactcag	cccactgca	cccaggtgaa
2641	ataaacagct	ttattgctca	aaaaaaaaa	aaaaaaaaa	aaaaaaaaa	

(SEQ ID NO: 4).

Se proporciona otra secuencia de nucleótidos representativa que codifica para el B7-H7 humano nativo:

ATGAAGGCACAGACAGCACTGTCTTTCTTCCCTCATTCTCATAACATCTCTGAGTGGA  
TCTCAAGGCATATTCCTTTGGCTTTCTTCATTTATGTTCCCTATGAATGAACAAATCG  
TCATTGGAAGACTTGATGAAGATATAATTCTCCCTTCTTCATTTGAGAGGGGATCCG  
AAGTCGTAATACTGGAAGTATCAAGATAGCTATAAGGTTACACAGTTACTACAAA

5

GGCAGTGACCATTTGGAAAGCCAAGATCCCAGATATGCAAACAGGACATCCCITTIC  
TATAATGAGATTCAAATGGGAATGCGTCGCTATTTTTTCAGAAGAGTAAGCCTTCTG  
GACGAAGGAATTTACACCTGCTATGTAGGAACAGCAATTCAAGTGATTACAAACAA  
AGTGGIGCTAAAGGTGGGAGTITICTCACACCCGTGATGAAGTATGAAAAGAGGAA  
CACAAACAGCTTCTTAATATGCAGCGTGTTAAGTGTTTATCCTCGTCCAATTATCAG  
TGGAAAATGGACAACACACCTATCTCTGAAAACAACATGGAAGAAACAGGGTCTTT  
GGATTCTTTTTCTATTAACAGCCCACTGAATATTACAGGATCAAATTCATCTTATGAA  
TGTACAATTGAAAATTCAGTCTGAAGCAAACATGGACAGGGCGCTGGACGATGAA  
AGATGGCCTTCATAAAATGCAAAGTGAACACGTTTCACTCTCATGTCAACCTGTAAA  
TGATTATTTTTACCAAACCAAGACTTCAAAGTTACTTGGTCCAGAATGAAAAGTGG  
GACTTTCTCTGTCCTGGCTTACTATCTGAGCTCCTCACAAAATACAATTATCAATGAA  
TCCCGATTCTCATGGAACAAAGAGCTGATAAACCAGAGTGACTTCTCTATGAATTTG  
ATGGATCTTAATCTTTCAGACAGIGGGGAATATTTATGCAATATTICTICGGATGAATA  
TACTTACTTACCATCCACACAGTGCATGTAGAACCAGCCAAGAAACAGCTTCCCA  
TAACAAAGGCTTATGGATTTTGGTGCCCTCTGCGATTTTGGCAGCTTTTCTGCTGATT  
TGGAGCGTAAAATGTTGCAGAGCCCAGCTAGAAGCCAGGAGGAGCAGACACCCTGC  
TGATGGAGCCCAACAAGAAAGATGTTGTGTCCCTCCTGGTGAGCGCTGTCCCAGTGC  
ACCCGATAATGGCGAAGAAAATGTGAGGTCTGTTTCTGGGAAAGTG (SEQ ID NO:  
13)

Se proporciona una secuencia de nucleótidos representativa que codifica para *Pan troloodytes*:

ATGAAGGCACAGACAGCACTGTCTTTCTTCCCTCATTCTCATAACATCTCTGAGTGGA  
TCTCAAGCCATATTCCCTATGGCTTTCTCCACTTATGTTCCCTGTGAATGAACAAATCG  
TCATTGGAAGACTTGATGAAGATATAATTCTCCCTTCTTCATTTGAGAGGGGATCGG  
AAGTCGTAATACACTGGAAGTATCAAGATAGCTATAAGGTTACAGTTACTACAAA  
GGCAGTGACCATTTGGAAAGCCAAGATCCCAGATATACAAACAGGACATCCCTTTTC  
TATAATGAGATTCAAGGGAATGCGTCGCTATTTTCCCAAGAGTAAGCCTTCTGGAC  
GAAGGAATTTACACCTGCTATGTAGGAACAGCAATTCAAGTGATTACAAACAAAGT  
GGTGCTAAAGGTGGGAGTTTTTCTCACACCCGTGATGAAGTATGAAAAGAGGAACA  
CAAACAGCTTCTTAATATGCAGCGTGTTAAGTGTTTATCCTCGTCCAATTATCACGTG  
GAAAATGGACAACACACCTATCTCTGAAAACAACATGGAAGAAACAGGGTCTTTGG  
ATTCTTTTTCTATTAACAGCCCACTGAATATTACAGGATCAAATTCATCTTATGAATG  
TACAATTGAAAATTCAGTCTGAAGCAAACATGGACAGGGCGCTGGACAATGAAAG  
ATGGCCTTCATAAAATGCAAAGTGAACACGTTTCACTCTCATGTCAACCTGTAAATG  
ATTATTTTTACCAAACCAAGACTTCAAAGTTACTTGGTCCAGAATGAAAAGTGGGA  
CTTTCTCTATCCIGGCTTACTATCTGAGCTCCTCACAAAATACAATTATCAATGAATC  
CCGATICTCATGGAACAAAGAGCTGATAAACCAGAGTGACTTCTCTATGAATTTGAT  
GGATCTTAATCTTTCAGACAGTGGGGAATATTTATGCAATATTTCTTCAGATGAATA  
TACTTTACTTACCATCCACACAGTGCATGTAGAACCAAGCCAAGAAACAGCTTCCCA  
TAACAAAGGCTTATGGATTTTGGTGCCCTCTGTGATTTTGGCAGCTTTTCTGCTGATT  
TGGACAGTAAAACGTTGCAGAGCCCAGCCAGAAGCCAGGAGGAGCAGACACCCTG  
CTGATGGAGCCCAACAAGAAAGATATTGTGTCCCTCCTGGTGAGCACTGTCCCAGTG  
CACCCGATAATGGCGAAGAAAATGTGAGGTCTGTTTCTGGGAAAGTG (SEQ ID NO:  
14)

5

Se proporciona una secuencia de nucleótidos representativa que codifica para *Macaca mulatta*:

ATGAAGGCACAGACGTCTTTCTTCCTCATTCTCATATCATCTCTGAGTGGATCTCAAG  
GCATATTCCTTTCAGCTTTCTTCACTTACGTTCCCTATGAATGAACAAATCATCATTGG  
AAGACTTGGTGAAGATATAATTCTCCCTTCTTCATTTGAGAGGGGATCCGAAGTTGT  
AATACACTGGAAGTATCAAGACAGCTACAATAGCTACAATGTICACAGTTACTACAA  
AGGCAGTGGCCGTTTGGAAAGCCAAGATACCAGATATGCAAACAGGACATCCCTTT  
TCTATAATGAGATTCAAAATGGGAATGCGTCTCTATTTTTTCAGAAGATTAAGCCTTC  
TGGATGAAGGAATTTATACCTGCTATGTAGGAACAGCAATTCAAGCGATTACAAAC  
AAAGTGGTGTCTAAAGGTGGGAGTTTTTCTCACACCCATGATGAAGTATGAAAAGAG  
GAACACAAACAGCTTCTTAATATGCAACGTGTTAAGTGTATCCTCGTCCAATTAT  
CACGTGGAAAATGGACAACACACCTATCTCTGAAAACAATATGCAAGAAACAGGGT  
CTTTGGGTCTTTTTTCGATTAACAGCACGCTGAATATTACAGGATCAAATTCATCTTA  
TGAATGTACAATTGAAAATTCCTTCTGAAGCAAACATGGACAGGGCGCTGGACAA  
TGAAAGATGGCCTTCATAAAATGCAAAGTGAACATGTTTCACTCTCATGTGAACCTG  
TAAATGATTATTTTTACACAAACCAAGACTTCAAAGTTACTTGGTCCAGAATGGAAA  
GTGGGATTTCTCTATCCTGGCTTACTATCTGAGCTCCTCACAAAATACAACCTTTCTA  
TGAATCCCGATTCTCATGGAACAAAGAGCTGAAAAACCAGAGTGACTTCTCTATGA  
ATTTGACGGATCTTAGTCTTTCAGACAGTGGGGAATATTTGTGCAATATTTCTTCGGA  
TGAATATACTTTACTCACCATACACACGGTGCACGTAGAACCAAGCCAAGAAACAG  
CTTCCGATAACAAAGGCTTATGGATTTTGGTGGCCAGTCTGATTTTGGTGCTCTGTCT  
GATTTGGCTGATTTGGAAAGTAAAATGTTCCACAGCCCAAATAGAAGCCAGGAGGA  
GCAGATACCCTGCTGATGGAGCCCAA (SEQ ID NO: 15)

Se proporciona una secuencia de nucleótidos representativa que codifica para bovino:

ATGAATGAGCAAATCGTCACTGGAAGACTAGGTGAAGATGTCATTCTCCCTTGCTCA  
TTTGAGAGTGGACCCAATGTCGTAATTCCTGGAAGAACCAAGATACCAATGTTTAC  
TCATACTACAGAGACAGCGACCAGTIGGAAAAGCAAGATCCCAGATATGTAAACAG  
GATATCCCTCTICCATGGTGAAGATTCACAATGGGAATGCCTCCCTGTCTTTCAGAAGA  
TTAACCTTCAGGATGAAGGAATCTACGTATGCTATGTGGGAACATCACTTGGAAAA  
ATCACAAAGAAAATAGTCCTAAAAGTGGGAGCTTTTTGTCACACCTGTGATGAAGTAT  
GAAAAGAATACCACCAACAGCTTCTTAATATGCAATGTGTTAAGTGTTTTTCTTAT  
CCAATTATCACATGGAAAGTGGATAATAATACATCTATCTCTGAAAACAATGGGAA  
AGAAGTTGGATCTTTGGGTCTTTTTCATATAAACAGCAGAGTAAATATTACAGGATC  
AAATTCATCATATCAGTGTGAAATTGAAAACCCACTGCTGAAGCAAACATGGACAG  
GAAGATGGACAAGGAAAGATAAAGAAAGGAATACAAAAGGAAGGAAATGCATTT  
GCAGAGTTCACTAGAAGTAAAGCAAATTTTTTCTGTAAATCTCCATACAGTGGACTT  
5 AC AATATTATTTAGTATAAAA (SEQ ID NO: 16)

10 En una realización específica, el ácido nucleico es un ácido nucleico aislado o purificado. En algunas realizaciones, los ácidos nucleicos codifican para la forma inmadura o precursora de un B7-H7 de mamífero que se produce de manera natural. En otras realizaciones, los ácidos nucleicos codifican para la forma madura de un B7-H7 de mamífero que se produce de manera natural. En una realización específica, los ácidos nucleicos que codifican para B7-H7 nativo codifican para la forma precursora de B7-H7 humano que se produce de manera natural. En otra realización, los ácidos nucleicos que codifican para B7-H7 nativo codifican para la forma madura de B7-H7 humano que se produce de manera natural.

15 Tal como se usa en el presente documento, el término "B7-H7CR nativo" en el contexto de proteínas o polipéptidos se refiere a cualquier secuencia de aminoácidos de B7-H7CR que se produce de manera natural, incluyendo formas maduras e inmaduras o precursoras. Los ejemplos no limitativos de n.<sup>os</sup> de registro para la secuencia de aminoácidos de B7-H7CR de mamífero nativo incluyen: Q96BF3-1 (*Homo sapiens*), Q96BF3-2 (*Homo sapiens*) y NP\_653216.1 (GI: 21389429; *Homo sapiens*). Se proporciona una secuencia de aminoácidos representativa de la  
20 forma inmadura/precursora de una isoforma de B7-H7 humano nativo, que comprende el péptido señal (subrayado) y el B7-H7CR nativo humano maduro (en cursiva):

*MGSPGMVLGL LVQIWALQEA SLSVQQGPNLLQVRQGSQA TLVCQVDQAT  
AWERLRVKWT KDGAILCQPY ITNGSLSLGV CGPQGRLSWQ APSHLTLQLD  
PVSLNHSGAY VCWAAVEIPE LEEAEGNITR LFVDPDDPTQ NNRRIASFPG  
FLFVLLGVGS MGVAIVWGA WFWGRRSCQQ RDSGNSPGNA FYSNVLYRPR  
GAPKSEDCS GEGKDQRGQS IYSTSFPQPA PRQPIILASRP CPSRPCSP  
RPGHPVSMVR VSPRPSPTQQ PRPKGFVKVGE*

(SEQ ID NO: 5). La secuencia de aminoácidos de una segunda isoforma de B7-H7 humano nativo difiere de esta primera isoforma en que los residuos de aminoácido 186 a 189 de SEQ ID NO: 5 faltan en la segunda isoforma.

5

Se proporciona otra secuencia de aminoácidos representativa de B7-H7 humano nativo:

*MGSPGMVLGLLVQIWALQEASSLSVQQGPNLLQVRQGSQATLVCQVDQATAWERL  
RVKWKDGDGAILCQPYITNGSLSLGVCGPQGRLSWQAPSHLTLQLDPVSLNHSGAYV  
CWAAVEIPELEEAEGNITRLFVDPDDPTQNRNRRIASFPGFLFVLLGVGSMGVAIVW  
GAWFWGRRSCQQRDSGNSPGNAFYSNVLYRPRGPPKSEDCS GEGKDQRGQSIYST  
SFPQAPRQPHLASRP CPSRPCSPRPGHPVSMVRVSPRPSPTQQPRPKGFVKVGE  
(SEQ ID NO: 20)*

10 Se proporciona una secuencia de aminoácidos representativa de B7-H7CR de *Pan troglodytes* nativo:

*MGSPGMVLGLLVQIWALQEASSLSVQQGPNLLQVRQGSQATLVCQVDQAPAWERL  
RVKWKDGDGAILCQPYITNGSLSLGVCGPQGRLSWQAPSHLTLQLDPVNLNHSGAYV  
CWAAVEIPELEEAESNITRLFVDPDDPTQNRNRITSFPGFLFVLLGVGSGAVAAIVLG  
AWFWGRRSCQQRDSGNSPGNAFYSNVLYRPRGAPKSEDCS GEGKDQRGQSIYSTS  
FPQATRQPHLAPRPCSPRPGHPVSMVRVSPRPSPTQQPRPKGFVKVGE  
(SEQ ID NO: 21)*

15

Se proporciona una secuencia de aminoácidos representativa de B7-H7CR de *Bos taurus* nativo:

*MGSPGTVLVLLVQFWVLQGVTVQVQAPKLLQVRQDSQVTLACQVMHAQAWEW  
LRVEWIKDADIFCQTHINGSLSKDVCGPQGWLSWQPPGNLTLQLNHVSLNDSGLYV  
CGATVEIPWEEAQNGTQLLVERGVWLQDHSFSGLYFAPLVTGAVAVAVFALGA  
GIWGRRCRNGDAGSPIYSNVLYRPRRAARKKAWPVERKVLDSQKQSFYSISFP  
QRPKSHMAPKFCSPRPIHPISAVRISPGPGSSGQPRSRGFLEVGREIRTAGPEKT  
YPQRLYKDVITYS (SEQ ID NO: 22)*

20

La figura 24 muestra una alineación de las secuencias de aminoácidos de B7-H7CR humano nativo, B7-H7CR de *Pan troglodytes* nativo y B7-H7CR de *Bos taurus* nativo representativas.

25

En algunas realizaciones, B7-H7CR nativo es la forma inmadura o precursora de un B7-H7CR de mamífero que se produce de manera natural. En otras realizaciones, B7-H7CR nativo es la forma madura de un B7-H7CR de mamífero que se produce de manera natural. En una realización específica, B7-H7CR nativo es la forma precursora de B7-H7CR humano que se produce de manera natural. En otra realización, B7-H7CR nativo es la forma madura de B7-H7CR humano que se produce de manera natural. En una realización, la proteína/el polipéptido de B7-H7 nativo se aísla o se purifica.

30

El polipéptido de B7-H7CR humano se denomina de otro modo proteína 2 que contiene dominio transmembrana y de inmunoglobulina (TMIGD2) en la bibliografía/bases de datos pero la función de B7-H7CR no se dilucidó previamente. Al menos una isoforma de polipéptido de B7-H7CR humano tiene 282 aminoácidos de longitud y se ha notificado que contiene lo siguiente: una señal de secuencia, un dominio de tipo inmunoglobulina (tipo Ig), un dominio transmembrana y un dominio citoplasmático. En particular, al menos una isoforma de B7-H7CR humano se ha notificado que contiene lo siguiente: una señal de secuencia en los residuos de aminoácido 1 a 22 de la secuencia en el n.º de registro Q96BF3-1, un dominio de tipo Ig en los residuos de aminoácido 23 a 129 de la secuencia en el n.º de registro Q96BF3-1, un dominio extracelular en los residuos de aminoácido 23 a 150 de la secuencia en el n.º de registro Q96BF3-1, un dominio transmembrana en los residuos de aminoácido 151 a 171 de la secuencia en el n.º de registro Q96BF3-1 y un dominio citoplasmático en los residuos de aminoácido 172 a 282 de la secuencia en el n.º de registro Q96BF3-1. El dominio citoplasmático de B7-H7CR humano incluye una región rica

35

en prolina (residuos de aminoácido 227-277), que puede estar implicada en la unión a proteínas adaptadoras que contienen el dominio SH3. El dominio citoplasmático de B7-H7CR humano incluye un residuo de serina (S220), que puede fosforilarse. También se predice que B7-H7CR tiene sitios de glicosilación con unión a N en los residuos de aminoácido 73, 105 y 127. El dominio de IgV de B7-H7CR humano comprende un par de cisteínas conservadas en las posiciones 44 y 112 que pueden formar un enlace disulfuro. Los residuos de Cys en las posiciones 67 y 81 también pueden formar enlaces disulfuro estructuralmente importantes. Además, se encuentran residuos de tirosina de importancia en las posiciones 192, 197 y 222 de B7-H7 humano nativo (por ejemplo, SEQ ID NO: 5).

Se han predicho dos formas de corte y empalme de B7-H7CR humano siendo la diferencia entre las formas de corte y empalme la presencia o ausencia de los residuos de aminoácido 186-189. Hay dos variantes conocidas que se producen de manera natural de B7-H7CR humano (W168L y A202P).

Tal como se usa en el presente documento, el término "B7-H7CR nativo" en el contexto de ácidos nucleicos se refiere a cualquier secuencia de ácido nucleico que se produce de manera natural que codifica para B7-H7CR, incluyendo las formas maduras e inmaduras o precursoras. Los ejemplos no limitativos de n.º de registro para la secuencia de nucleótidos de B7-H7CR de mamífero nativo incluyen: AK358964 (*Homo sapiens*) y BC015655 (*Homo sapiens*). Se proporciona una secuencia de nucleótidos representativa que codifica para la forma inmadura/precursora de B7-H7 humano nativo, que comprende la secuencia de nucleótidos que codifica para el péptido señal (subrayado) y la secuencia de nucleótidos que codifica para el B7-H7CR nativo humano maduro (en cursiva):

ggaagtctgt	caactgggag	ggggagaggg	gggtgatggg	ccaggaatgg	<u>ggccccggg</u>	60
catggtgctg	ggcctcctgg	tgcagatctg	ggccctgcaa	gaagcctcaa	<u>gcctgagcgt</u>	120
<u>gcagcagggg</u>	<u>cccaacttgc</u>	<u>tgcaagtgag</u>	<u>gcagggcagt</u>	<u>caggcgacc</u>	<u>tggtctgcca</u>	180
<u>gyhyvaccag</u>	<u>gccacagcct</u>	<u>gggaacggct</u>	<u>ccgtgttaag</u>	<u>tggacaaagg</u>	<u>atggggccat</u>	240
<u>cctgtgtcaa</u>	<u>ccgtacatca</u>	<u>ccaacggcag</u>	<u>cctcagcctg</u>	<u>gggggtctcg</u>	<u>ggccccaggg</u>	300
<u>acggctctcc</u>	<u>tgccaggeac</u>	<u>ccagccatct</u>	<u>caccctgcag</u>	<u>ctggaccctg</u>	<u>tgagcctcaa</u>	360
<u>ccacagcggg</u>	<u>gcgtacgtgt</u>	<u>gctgggcggc</u>	<u>cgtagagatt</u>	<u>cctgagttgg</u>	<u>aggaggtctga</u>	420
<u>gggcaacata</u>	<u>acaaggtctt</u>	<u>ttgtggaccc</u>	<u>agatgacccc</u>	<u>acacagaaca</u>	<u>gaaaccggat</u>	480
<u>cgcaagcttc</u>	<u>ccaggattcc</u>	<u>tcttcgtgct</u>	<u>gctgggggtg</u>	<u>ggaagcatgg</u>	<u>gtgtggctgc</u>	540
<u>gatcgtgtgg</u>	<u>ggtgcctggt</u>	<u>tctggggccg</u>	<u>ccgcagctgc</u>	<u>cagcaaaagg</u>	<u>acicaggtaa</u>	600
<u>cagcccagga</u>	<u>aatgcattct</u>	<u>acagcaacgt</u>	<u>cctataccgg</u>	<u>ccccgggggc</u>	<u>ccccaaagaa</u>	660
<u>gagtgaggac</u>	<u>tgctctggag</u>	<u>aggggaagga</u>	<u>ccagaggggc</u>	<u>cagagcattt</u>	<u>attcaacctc</u>	720
<u>cttcccgeaa</u>	<u>ccggcccccc</u>	<u>gccagccgca</u>	<u>cctggcgta</u>	<u>agaccctgcc</u>	<u>ccagcccag</u>	780
<u>accctgcccc</u>	<u>agccccagge</u>	<u>ccggccaccc</u>	<u>cgtctctatg</u>	<u>gtcagggtct</u>	<u>ctcctagacc</u>	840
<u>aagccccacc</u>	<u>cagcagccga</u>	<u>ggccaaaagg</u>	<u>gtlccccaaa</u>	<u>gtgggagagg</u>	<u>agtgagagat</u>	900
<u>cccaggagac</u>	<u>ctcaacagga</u>	<u>cccaccat</u>	<u>aggtacacac</u>	<u>aaaaaagggg</u>	<u>ggatcgaggc</u>	960
<u>cagacacggt</u>	<u>ggctcacgcc</u>	<u>tgtaatccca</u>	<u>gcagtttggg</u>	<u>aagccgaggc</u>	<u>gggtggaaca</u>	1020
<u>cttgaggtca</u>	<u>ggggtttgag</u>	<u>accagcctgg</u>	<u>cttgaacctg</u>	<u>ggaggcggag</u>	<u>gttgagtgga</u>	1080
<u>gccgagattg</u>	<u>cgccactgca</u>	<u>ctccagcctg</u>	<u>ggcgacagag</u>	<u>tgagactccg</u>	<u>tctcaaaaaa</u>	1140
<u>aacaaaaagc</u>	<u>aggaggattg</u>	<u>ggagcctgtc</u>	<u>agccccatcc</u>	<u>tgagaccccg</u>	<u>tcctcatttc</u>	1200
<u>tgtaatgatg</u>	<u>gatctcgtc</u>	<u>ccacttccc</u>	<u>ccaagaacct</u>	<u>aataaaggct</u>	<u>tgtgaagaaa</u>	1260
<u>aaaaaaaaaa</u>	<u>aaaaaa</u>					

**(SEQ ID NO: 6).**

Se proporciona otra secuencia de nucleótidos representativa que codifica para un B7-H7 humano nativo:

1 atgggggtccc cgggcatggt gctgggcctc ctggtgcaga tctgggcct gcaagaagcc  
 61 tcaagcctga gcgtgcagca ggggccaac ttgctgcagg tgaggcaggg cagtcaggcg  
 121 accctggtct gccaggtgga ccaggccaca gcctgggaac ggctccgtgt taagtggaca

181 aaggatgggg ccatcctgtg tcaaccgtac atcaccaacg gcagcctcag cctgggggtc  
 241 tgcgggcccc agggacggct ctctggcag gcaccagcc atctaccct gcagctggac  
 301 cctgtgagcc tcaaccacag cggggcgtac gtgtgctggg cggccgtaga gattcctgag  
 361 ttggaggagg ctgagggcaa cataacaagg ctctttgtgg acccagatga cccacacag  
 421 aacagaaacc ggatcgaag ctccagga ttctcttcg tgctgctggg ggtgggaagc  
 481 atgggtgtgg ctgcgatctg gtggggtgcc tggttctggg gccgcccag ctgccagcaa  
 541 agggactcag gtaacagccc aggaaatgca ttctacagca acgtcctata cggccccgg  
 601 gggcccccaa agaagagtga ggactgctct ggagagggga aggaccagag gggccagagc  
 661 attattcaa cctcctccc gcaaccggcc ccccgccagc cgcacctggc gtaagacc  
 721 tgccccagcc cgagaccctg cccagcccc agggccggcc acccgtctc tatggtcagg  
 781 gtctctcta gaccaagccc caccagcag ccgaggccaa aagggttccc caaagtggga  
 841 gaggagtga (SEQ ID NO: 23)

Se proporciona una secuencia de nucleótidos representativa que codifica para *Pan troglodytes* nativo:

1	atggggtccc	cgggcatggt	gctgggctc	ctggtgcaga	tctgggcct	gcaagaagcc
61	tcaagcctga	gcgtgcagca	ggggcccaac	ttgctgcagg	tgaggcaggg	cagtcagggc
121	acctgtgtct	gccaggtgga	ccaggcccca	gcctgggaac	ggctccgtgt	taagtggaca
181	aaggatgggg	ccatcctgtg	tcaaccgtac	atcaccaacg	gcagcctcag	cctgggggtc
241	tgcgggcccc	agggacggct	ctctggcag	gcaccagcc	atctaccct	gcagctggac
301	cctgtgaacc	tcaaccacag	cggggcgtac	gtgtgctggg	cggccgtaga	gattcctgag
361	ttggaggagg	ctgagggcaa	cataacaagg	ctctttgtgg	accagatga	cccacacag
421	aacagaaacc	ggatcacaag	ctccagga	ttctcttcg	tgctgctggg	ggtgggaagc
481	ggggctgtgg	ccgcatcgt	gttgggtgcc	tggttctggg	gccgcccag	ctgccagcaa
541	agggactcag	gtaacagccc	aggaaatgca	ttctacagca	acgtcctata	cggccccgg
601	ggggccccaa	agaagagtga	ggactgctct	ggagagggga	aggaccagag	gggcccagagc
661	attattcaa	cctcctccc	gcaaccggcc	accgcccagc	cgcacctggc	gccaagacc
721	tgccccagcc	cgagaccctg	ccccagcccc	agggccggcc	acccgtctc	tatggtcagg
781	gtctctcta	gaccaagccc	caccagcag	ccgaggccaa	aagggttccc	caaagtggga
5 841	gaggagtaa	(SEQ ID NO: 24)				

Se proporciona una secuencia de nucleótidos representativa que codifica para *Bos taurus* nativo:

1	atggggtccc	cgggcacagt	gctggtctc	ctggtgcagt	tctgggtcct	acaaggagtc
61	acaggcctga	ctgtgcagca	ggcaccgaag	ttgctgcagg	tgagacagga	cagccaggtg
121	actttggcct	gccaggtgat	gcacgcccag	gcctgggagt	ggctccgtgt	cgagtggatc
181	aaggatgctg	acatctttg	ccagacacac	atcatcaatg	gcagtctgag	caaggatgtc
241	tgtgggcctc	agggatgget	atcctggcag	ccgctggca	acctaccct	gcagctgaac
301	caegtgagcc	tcaatgacag	tggacttat	gtgtggtggg	caaccgtgga	gatcctgtt
361	tgggaggagg	cccagggcaa	cgggacgcag	ctcctggtgg	agagaggtgt	ctggctgcag
421	gaccacagct	tctcaggcct	ctacttcgcg	ccgctggtga	cgggggcccgt	ggccgttgc
481	gttttcgctc	tgggcgctgg	gatctggggc	cgccgcccgt	gccggaacgg	ggatgcaggg
541	agtccaatct	acagcaacgt	cctataccgg	ccccggagag	ccgcaagga	gaaggcatgg
601	cctgtgaaaa	ggaagtgct	ggacagtgg	gatcagaagg	gccaaagctt	ctactgac
661	tcttcccc	agcgecccaa	gtcgcatatg	gctcccaaat	tttgecccag	tcccagacc
721	attcacccca	tctctgcagt	cagaatctct	cctggcccag	gctcctctgg	gcagccaagg
781	tcaagagggt	tcctgaaat	gggaagagaa	atcagaaccg	caggagagcc	agagaagacc
841	tacccccagc	gactatataa	agatgtgact	tattcctag	(SEQ ID NO: 25)	

10 Se incluye una alineación de ácido nucleico de B7-H7CR humano nativo representativo, B7-H7CR de *Pan troglodytes* nativo y B7-H7CR de *Bos taurus* nativo como figura 25.

15 En una realización específica, el ácido nucleico es un ácido nucleico aislado o purificado. En algunas realizaciones, los ácidos nucleicos codifican para la forma inmadura o precursora de un B7-H7CR de mamífero que se produce de manera natural. En otras realizaciones, los ácidos nucleicos codifican para la forma madura de un B7-H7CR de mamífero que se produce de manera natural. En una realización específica, ácidos nucleicos que codifican para B7-H7CR nativo codifican para la forma precursora de B7-H7CR humano que se produce de manera natural. En otra realización, los ácidos nucleicos que codifican para B7-H7CR nativo codifican para la forma madura de B7-H7CR humano que se produce de manera natural.

20

Tal como se usa en el presente documento, el término “ligando nativo” se refiere a cualquier ligando que se produce de manera natural que se une a un receptor que se produce de manera natural. En una realización específica, el ligando es un ligando de mamífero. En otra realización específica, el ligando es un ligando humano.

5 Tal como se usa en el presente documento, el término “receptor nativo” se refiere a cualquier receptor que se produce de manera natural que se une a un ligando que se produce de manera natural. En una realización específica, el receptor es un receptor de mamífero. En otra realización específica, el receptor es un receptor humano.

10 Tal como se usa en el presente documento, los términos “ácido nucleico”, “nucleótido” y “polinucleótido” se refieren a desoxirribonucleótidos, ácidos desoxirribonucleicos, ribonucleótidos y ácidos ribonucleicos, y formas poliméricas de los mismos, e incluyen o bien formas monocatenarias o bien bicatenarias. Los ácidos nucleicos incluyen ácidos nucleicos que se producen de manera natural, tales como ácido desoxirribonucleico (“ADN”) y ácido ribonucleico (“ARN”) así como análogos de ácido nucleico. Los análogos de ácido nucleico incluyen aquellos que incluyen bases que no se producen de manera natural, nucleótidos que participan en uniones con otros nucleótidos distintos del enlace fosfodiéster que se produce de manera natural o que incluyen bases unidas a través de uniones distintas de enlaces fosfodiéster. Por tanto, los análogos de ácido nucleico incluyen, por ejemplo y sin limitación, fosforotioatos, fosforditioatos, fosforotriésteres, fosforamidatos, boranofosfatos, metilfosfonatos, fosfonatos de metilo quirral, 2-O-metil-ribonucleótidos, ácidos nucleicos peptídicos (PNA), ácidos nucleicos bloqueados (LNA), y similares.

Tal como se usa en el presente documento, el término “lactante humano prematuro” se refiere a un lactante humano nacido a menos de 37 semanas de edad gestacional.

25 Tal como se usa en el presente documento, los términos “prevenir”, “que previene” y “prevención” en el contexto de administrar una terapia a un sujeto se refiere al efecto profiláctico que un sujeto obtiene al recibir una terapia. En una realización específica, tales términos se refieren a la inhibición del desarrollo o inicio de una enfermedad o un síntoma asociado con la misma, o inhibición de la recaída de una enfermedad o un síntoma de la misma.

30 Tal como se usa en el presente documento, los términos “purificado” y “aislado” en el contexto de un agente (incluyendo, por ejemplo, agentes proteínicos tales como anticuerpos) que se sintetiza químicamente se refiere a un agente que está sustancialmente libre de precursores químicos u otras sustancias químicas cuando se sintetiza químicamente, es decir, se separa de precursores químicos u otras sustancias químicas que están implicados en la síntesis de la proteína. En una realización específica, el agente está el 60%, el 65%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%,  
35 el 95% o el 99% libre (en peso seco) de otros compuestos o agentes diferentes.

Tal como se usa en el presente documento, los términos “purificado” y “aislado” cuando se usan en el contexto de un agente (incluyendo agentes proteínicos tales como anticuerpos y polipéptidos) que puede obtenerse a partir de una fuente natural, por ejemplo, células, se refiere a un agente que está sustancialmente libre de materiales contaminantes de la fuente natural, por ejemplo, partículas del suelo, minerales, sustancias químicas del entorno y/o materiales celulares de la fuente natural, tales como pero sin limitarse a residuos celulares, materiales de la pared celular, membranas, orgánulos, el volumen de los ácidos nucleicos, hidratos de carbono, proteínas y/o lípidos presentes en las células. La expresión “sustancialmente libre de materiales de la fuente natural” se refiere a preparaciones de un agente que se separado del material (por ejemplo, componentes celulares de las células) del que se aísla. Por tanto, un agente que está aislado incluye preparaciones de un compuesto o agente que tiene  
45 menos de aproximadamente el 30%, el 20%, el 10%, el 5%, el 2% o el 1% (en peso seco) de materiales celulares y/o materiales contaminantes.

Una secuencia de ácido nucleico o secuencia de nucleótidos “aislada” es una que se separa de otras moléculas de ácido nucleico que están presentes en una fuente natural de la secuencia de ácido nucleico o secuencia de nucleótidos. Además, una secuencia de ácido nucleico o secuencia de nucleótidos “aislada”, tal como una molécula de ADNc, puede estar sustancialmente libre de otro material celular o medio de cultivo cuando se produce mediante técnicas recombinantes, o sustancialmente libre de precursores químicos cuando se sintetiza químicamente. En determinadas realizaciones, una secuencia de ácido nucleico o secuencia de nucleótidos “aislada” es una secuencia  
50 de ácido nucleico o secuencia de nucleótidos que se expresa de manera recombinante en una célula heteróloga.

Tal como se usa en el presente documento, a menos que se especifique lo contrario, los términos “proteína(s)” y “polipéptido(s)” se usan de manera intercambiable para referirse a una cadena de aminoácidos unidos entre sí mediante enlaces peptídicos. En algunas realizaciones, los términos “proteína(s)” y “polipéptido(s)” se refieren a una macromolécula que comprende aminoácidos que están unidos entre sí mediante enlaces peptídicos.  
60

Tal como se usa en el presente documento, los términos “sujeto” y “paciente” se usan de manera intercambiable y se refieren a un animal. En una realización específica, tales términos se refieren a un mamífero tal como un no primate (por ejemplo, vacas, cercos, caballos, gatos, perros, ratas etc.) y un primate (por ejemplo, mono y ser humano), lo más preferiblemente un ser humano. En determinadas realizaciones, tales términos se refieren a un animal no humano (por ejemplo, un animal no humano tal como un cerdo, caballo, vaca, gato o perro). En algunas  
65

realizaciones, tales términos se refieren a una mascota o a un animal de granja. En realizaciones específicas, tales términos se refieren a un ser humano.

5 Tal como se usa en el presente documento, el término “agente(s) terapéutico(s)” se refiere a un/unos agente(s) que modula(n) una o más funciones o respuestas del sistema inmunitario. En una realización específica, un agente terapéutico modula una o más de las rutas de transducción de señales inducidas cuando un ligando nativo se une a un receptor nativo. En otra realización específica, un agente terapéutico modula la interacción entre un receptor nativo y uno o más de sus ligandos nativos. En otra realización específica, un agente terapéutico modula la expresión de un receptor nativo o un ligando nativo. En algunas realizaciones, un agente terapéutico es un agonista.  
10 En otras realizaciones, un agente terapéutico es un antagonista.

15 Tal como se usa en el presente documento, los términos “terapias” y “terapia” pueden referirse a cualquier protocolo, método, composición, formulación y/o agente que puede usarse en la prevención, el tratamiento, la gestión o la mejora de una enfermedad, por ejemplo, cáncer, enfermedad infecciosa, enfermedad autoinmunitaria, enfermedad de injerto contra huésped y rechazo de trasplante, o un síntoma asociado con los mismos. En determinadas realizaciones, los términos “terapias” y “terapia” se refieren a farmacoterapia, terapia adyuvante, radiación, cirugía, terapia biológica, terapia de apoyo y/u otras terapias útiles en el tratamiento, la gestión, la prevención o la mejora de un estado o trastorno o un síntoma de los mismos. En una realización específica, una terapia incluye el uso de un agente terapéutico como terapia adyuvante. Por ejemplo, el uso de un agente terapéutico junto con una  
20 farmacoterapia, terapia biológica, cirugía y/o terapia de apoyo. En una realización específica, una terapia incluye un agente terapéutico.

En una realización, una terapia incluye un agente terapéutico inmunoestimulante. En una realización alternativa, una terapia incluye un agente terapéutico inhibidor. En otra realización, una terapia no es un agente terapéutico inmunoestimulante. En una realización alternativa, una terapia no es un agente terapéutico inhibidor.  
25

Tal como se usa en el presente documento, los términos “tratar”, “que trata” y “tratamiento” en el contexto de la administración de una terapia a un sujeto se refieren a los efectos beneficiosos que un sujeto obtiene de una terapia. En determinadas realizaciones, el tratamiento de un sujeto con un agente terapéutico logra uno, dos, tres, cuatro o más de los siguientes efectos: (i) reducción o mejora de la gravedad de una enfermedad o síntoma asociado con la misma; (ii) reducción en la duración de un síntoma asociado con una enfermedad; (iii) prevención de la evolución de una enfermedad o síntoma asociado con la misma; (iv) regresión de una enfermedad o síntoma asociado con la misma; (v) prevención del desarrollo o inicio de un síntoma asociado con una enfermedad; (vi) prevención de la recaída de un síntoma asociado con una enfermedad; (vii) reducción en la hospitalización de un sujeto; (viii) reducción en la duración de la hospitalización; (ix) un aumento en la supervivencia de un sujeto con una enfermedad; (x) una reducción en el número de síntomas asociados con una enfermedad; (xi) una potenciación, una mejora, una suplementación, una complementación o un aumento del/de los efecto(s) profiláctico(s) o terapéutico(s) de otra terapia.  
30  
35

#### 40 4. Descripción de la tabla y las figuras

Tabla 1. Lista de la colección de clones de ADNc usada en el proteoma de receptor-ligando. Se incluyen más de 1.900 genes humanos que codifican para ADNc de membrana plasmática de longitud completa en un vector de expresión de mamífero en este sistema de proteoma para el examen de interacciones de receptor y ligando.  
45

Figura 1. Vista esquemática del proteoma de receptor-ligando. Se coloca un conjunto de ~ 1.900 plásmidos que codifican para genes transmembrana humanos de manera individual en cinco placas de 384 pocillos y se transfieren en células 293T mediante lipofectamina. Posteriormente, se añaden una proteína de fusión diana y un anticuerpo secundario marcado con fluorescencia a las células transfectadas tras ocho horas. Veinticuatro horas después, el sistema de detección celular Applied Biosystem 8200 (CDS) realiza el barrido sobre la superficie celular para detectar pocillos positivos. Se recogerán plásmidos individuales dentro de cada pocillo con resultados positivos y se estudiarán adicionalmente para su validación.  
50

Figura 7. Homología de secuencia de B7-H7 con respecto a moléculas de la familia B7 descritas previamente. Se alineó la secuencia de proteína B7-H7 humana mediante el programa ClustalW con otros miembros de la familia de ligandos B7 incluyendo B7-1, B7-2, B7-H1, B7-DC, B7-H3 y B7-H4.  
55

Figura 8. Identificación de la interacción de B7-H7 y B7-H7R mediante el sistema CDS. Usando el procedimiento idéntico al descrito en la figura 2, se añadieron B7-H7Ig y anticuerpo secundario anti-mIg FMAT blue a las placas de 384 pocillos 8 horas tras la transfección. Se leyeron las placas mediante el sistema de detección celular Applied Biosystems 8200 y se analizaron mediante el software CDS 8200 24 h tras la transfección. Se identificó B7-H7CR humano (J18) como un resultado positivo además de los controles positivos, FcR (05) y OLN (P1).  
60

Figura 9. Homología de secuencia de B7-H7CR con respecto a miembros de la familia CD28 descritos previamente. Se alineó la secuencia de proteína B7-H7CR humana mediante el programa ClustalW con otros miembros de la familia de CD28 incluyendo CD28, CTLA-4, PD-1 e ICOS.  
65

Figuras 10A-10F. Identificación y caracterización de una ruta coestimuladora de células T novedosa a través de la interacción de B7-H7 y B7-H7CR.

- 5 (A) Unión de B7-H7CR mediante B7-H7Ig en células transfectadas. Se transfectaron células 293T de manera transitoria con el plásmido que contiene ADNc de B7-H7CR humano o plásmido de vector, y se tiñeron posteriormente mediante AcM específico para B7-H7CR (clon 4-5, paneles superiores) o B7-H7Ig (paneles inferiores). Se analizaron los datos mediante una citometría de flujo FACScan.
- 10 (B) Expresión constitutiva e inducible de B7-H7 en macrófagos y células dendríticas. Se purificaron monocitos humanos a partir de sangre de donantes sanos y se cultivaron *in vitro* durante una semana en presencia de GM-CSF o GM-CSF + IL-4 para que se diferenciaron en macrófagos (M) o células dendríticas (DC), respectivamente. También se trataron las células sin (ninguno) o con IFN- $\gamma$ , poli I:C o *Listeria monocytogenes* inactivada por calor (HKLM) durante 24 h y posteriormente se tiñeron mediante un AcM anti-B7-H7 (clon 2D3). Se analizaron los datos mediante una citometría de flujo FACScan.
- 15 (C) Expresión constitutiva e inducible de B7-H7CR en linfocitos. Se purificaron células mononucleares de sangre periférica humana y se tiñeron mediante AcM específico contra CD3, CD19, CD56 y CD16 junto con AcM anti-B7-H7CR (clon 4-5). Se analizaron los datos mediante una citometría de flujo FACScan.
- 20 (D) B7-H7Ig coestimula la proliferación de células T CD4+ y la producción de citocinas. Se seleccionaron de manera negativa células T CD4+ de sangre periférica de donante sano y se purificaron mediante columna de afinidad. Se estimularon células T CD4+ purificadas a  $2,5 \times 10^5$  células/pocillo con AcM anti-CD3 humano inmovilizado (OKT3) a las concentraciones indicadas y B7-H7Ig 5  $\mu\text{g/ml}$  o Ig de control (Ig de ctl). Se añadió 3HTdR durante las seis horas finales de cultivo y se determinó la incorporación de 3HTdR mediante un contador de centelleo. En un experimento paralelo, se recogieron sobrenadantes del cultivo y se midieron las citocinas mediante kits de ELISA de tipo sándwich con pares específicos de AcM.
- 25 (E, F) Coestimulación de la proliferación de células T CD4+ mediante AcM frente a B7-H7CR agonista. (E) Se purificaron y se estimularon células T CD4+ tal como se describió en (D). En lugar de B7-H7Ig, se coinmovilizó un AcM anti-B7-H7CR (clon 4-5) con AcM anti-CD3 en la placa (panel izquierdo). Para someter a prueba el efecto sinérgico con coestimulación de CD28, se añadió un AcM frente a CD28 (clon CD28.2, 1  $\mu\text{g/ml}$ ) al cultivo junto con AcM frente a B7-H7CR (panel derecho). (F) Se coestimularon células T CD4+ humanas con B7-H7Ig y AcM anti-CD3 inmovilizados en placa tal como se describió en (E) en presencia de B7-H7CRlg o AcM frente a B7-H7 soluble
- 30 10  $\mu\text{g/ml}$ . Se añadió 3HTdR durante las seis horas finales de cultivo y se determinó la incorporación de 3HTdR mediante un contador de centelleo.
- 35

Figura 11. El AcM frente a B7-H7 2D3 bloquea completamente la unión de B7-H7CR a células B7-H7+. Se transfectaron células CHO con el plásmido que codifica para B7-H7 humano y se tiñeron posteriormente mediante B7-H7CRlg 10  $\mu\text{g/ml}$  sin (panel izquierdo) o con (panel derecho) un AcM frente a B7-H7 (clon 2D3) a 20  $\mu\text{g/ml}$  tal como se describió anteriormente.

40

Figura 12. B7-H7CR se une específicamente a B7-H7 pero no a otros miembros de la familia B7. Se transfectaron células 293T con miembros de la familia B7 individuales incluyendo B7-1, B7-2, B7-H1, B7-DC, B7-H2, B7-H3 (tanto forma 2Ig como 4 Ig) y B7-H4. Tras teñir con B7-H7CRlg a 10  $\mu\text{g/ml}$  y AcM secundario marcado con fluorescencia, se analizaron las células mediante citometría de flujo y los datos se muestran como densidad de fluorescencia.

45

Figura 13. Detección de ARNm de B7-H7 y B7-H7CR humano en tejidos. Se usaron alineamientos de ADNc de tejido humano (Clontech) como moldes con los pares de cebadores específicos de B7-H7 y B7-H7CR, respectivamente, para realizar RT-PCR. Los pares de cebadores de G3PDH sirven como controles.

50

Figura 14. Fallo al detectar B7-H7 de superficie celular en células T, B, NK y monocitos. Se purificaron células mononucleares de sangre periférica humana y se tiñeron conjuntamente con AcM anti-B7-H7 y anticuerpo específico de tipo celular contra células T (CD3), células B (CD 19), células NK (CD56) y monocitos (CD14). Tras la tinción, se analizaron las células mediante citometría de flujo y los datos se muestran como densidad de fluorescencia.

55

Figuras 15A-15B. Ilustración de nuevas rutas coestimuladoras. (A) Intersección entre las rutas de B7-CD28 y B7-H2/ICOS. Las interacciones descritas previamente están indicadas en líneas negras, y las interacciones recién descritas se muestran en negrita. (B) Interacciones recién descritas entre B7-H7 y B7-H7CR.

60

Figura 22. Comparación de la producción de citocinas inducida por la coestimulación de B7-1 y B7-2. Se estimularon células T CD4+ purificadas de PBMC de un donante sano a  $2,5 \times 10^5$  células/pocillo mediante AcM frente a CD3 y B7-1Ig o B7-2Ig inmovilizados. Se recogieron los sobrenadantes diariamente hasta tres días. Se midieron los niveles de citocinas mediante kit de citocinas Th1/Th2 humanas de matriz de perlas citométrica (CBA) BD y conjunto CBA IL-17A Flex, y se analizaron mediante software de matriz FCAP. Cada punto de datos es un promedio de triplicados.

65

Figura 23. Una alineación de secuencias de aminoácidos de B7-H7 humano nativo, B7-H7 de *Pan troglodytes* nativo y B7-H7 de *Macaca mulatta* nativo representativos.

5 Figura 24. Una alineación de las secuencias de aminoácidos de B7-H7CR humano nativo, B7-H7CR de *Pan troglodytes* nativo y B7-H7CR de *Bos taurus* nativo representativos.

Figura 25. Una alineación de las secuencias de ácido nucleico de B7-H7CR humano nativo, B7-H7CR de *Pan troglodytes* nativo y B7-H7CR de *Bos taurus* nativo representativos.

10

## 5. Descripción detallada

En un aspecto, se describe en el presente documento el descubrimiento de B7-H7CR como receptor coestimulador y la modulación de una o más rutas de transducción de señales mediadas por B7-H7CR a uno o más de sus ligandos (por ejemplo, B7-H7). En otro aspecto, se describen en el presente documento anticuerpos que se unen específicamente a B7-H7, B7-H7CR o el complejo de B7-H7 y B7-H7CR. En otro aspecto, se describen en el presente documento agentes terapéuticos que modulan la interacción entre determinados receptores coestimuladores y uno o más de sus ligandos, y el uso de tales agentes terapéuticos para modular una o más funciones del sistema inmunitario. Los agentes terapéuticos descritos en el presente documento se basan, en parte, en el descubrimiento de nuevas interacciones receptor-ligando coestimuladoras. Los agentes terapéuticos pueden usarse en cultivo celular para modular funciones de células inmunitarias (por ejemplo, proliferación de linfocitos, producción de citocinas o producción de anticuerpos). En particular, una célula puede ponerse en contacto con un agente terapéutico para modular una o más funciones de células inmunitarias. Además, un agente terapéutico puede administrarse a un sujeto para prevenir, tratar o gestionar determinadas enfermedades, tales como cáncer, una enfermedad infecciosa, una enfermedad autoinmunitaria y una enfermedad inflamatoria.

25

En otro aspecto, se describen en el presente documento métodos de identificación de interacciones receptor-ligando. Tales métodos pueden usarse para identificar interacciones entre ligandos coestimuladores y receptores coestimuladores.

30

### 5.1 ANTICUERPOS ESPECÍFICOS PARA B7-H7 O B7-H7CR

En un aspecto, se presentan en el presente documento anticuerpos que se unen específicamente a un polipéptido de B7-H7. En una realización específica, se presentan en el presente documento anticuerpos que se unen específicamente a un polipéptido de B7-H7 humano. En otra realización específica, se presentan en el presente documento anticuerpos que se unen específicamente a un polipéptido de B7-H7 nativo (por ejemplo, un polipéptido de B7-H7 humano nativo) e inhiben o reducen la unión del polipéptido de B7-H7 nativo a uno o más receptores de B7-H7 (por ejemplo, un polipéptido de B7-H7CR nativo). En una realización más específica, se presentan en el presente documento anticuerpos que se unen específicamente a un polipéptido de B7-H7 nativo (por ejemplo, un polipéptido de B7-H7 humano nativo) e inhiben o reducen la unión de polipéptido de B7-H7 nativo (por ejemplo, un polipéptido de B7-H7 humano nativo) a un polipéptido de B7-H7CR nativo (por ejemplo, un polipéptido de B7-H7CR humano nativo). Tales anticuerpos, según estas realizaciones, pueden bloquear (estérica o no estéricamente) la unión del polipéptido de B7-H7 al polipéptido de B7-H7CR. En una realización específica, un anticuerpo reduce la unión del polipéptido de B7-H7 al polipéptido de B7-H7CR en al menos el 10%, el 15%, el 25%, el 30%, el 40%, el 50%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 10% y el 25%, el 10% y el 50%, el 10% y el 75%, el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 25% y el 98%, el 50% y el 98% o el 75% y el 100% en relación con un control negativo (por ejemplo, unión del polipéptido de B7-H7 al polipéptido de B7-H7CR en ausencia del anticuerpo o en presencia de un anticuerpo de control negativo que se sabe que no se une a B7-H7) tal como se determina mediante métodos bien conocidos en la técnica, por ejemplo, ELISA, ensayos basados en células incluyendo citometría de flujo, ensayo KinEx A y ensayo de resonancia de plasmón superficial (por ejemplo, ensayo BIAcore®).

50

En otro aspecto, se presentan en el presente documento anticuerpos que se unen específicamente a un polipéptido de B7-H7CR. En una realización específica, se presentan en el presente documento anticuerpos que se unen específicamente a un polipéptido de B7-H7CR humano. En otra realización específica, se presentan en el presente documento anticuerpos que se unen específicamente a un polipéptido de B7-H7CR nativo (por ejemplo, un B7-H7 humano nativo) e inhiben o reducen la unión del B7-H7CR nativo a uno o más ligandos de B7-H7CR (por ejemplo, un polipéptido de B7-H7 nativo). En una realización más específica, se presentan en el presente documento anticuerpos que se unen específicamente a un polipéptido de B7-H7CR nativo (por ejemplo, un polipéptido de B7-H7CR humano nativo) e inhiben o reducen la unión de un polipéptido de B7-H7CR nativo (por ejemplo, un polipéptido de B7-H7CR humano nativo) a un polipéptido de B7-H7 nativo (por ejemplo, polipéptido de B7-H7 humano nativo). Tales anticuerpos, según estas realizaciones, pueden bloquear (estérica o no estéricamente) la unión del polipéptido de B7-H7 al polipéptido de B7-H7CR. En una realización específica, un anticuerpo reduce la unión del B7-H7 al B7-H7CR en al menos el 10%, el 15%, el 25%, el 30%, el 40%, el 50%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 10% y el 25%, el 10% y el 50%, el 10% y el 75%, el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 25% y el 98%, el 50% y el 98% o el 75% y el 100% en relación con un control

65

negativo (por ejemplo, unión del polipéptido de B7-H7 al polipéptido de B7-H7CR en ausencia del anticuerpo o en presencia de un anticuerpo de control negativo que se sabe que no se une a B7-H7) tal como se determina mediante métodos bien conocidos en la técnica, por ejemplo, ELISA, ensayos basados en células incluyendo citometría de flujo, ensayo KinEx A y ensayo de resonancia de plasmón superficial (por ejemplo, ensayo BIAcore®). En determinadas realizaciones, el anticuerpo que se une específicamente a B7-H7CR polipéptido es un agonista. En otras realizaciones, el anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido de B7-H7CR es un antagonista.

En otro aspecto, se presentan en el presente documento anticuerpos que se unen específicamente al complejo de B7-H7CR/B7-H7. En una realización específica, se presentan en el presente documento anticuerpos que se unen específicamente al complejo de B7-H7CR humano/B7-H7 humano. En otra realización específica, se presentan en el presente documento anticuerpos que se unen específicamente a un complejo de B7-H7CR nativo/B7-H7 nativo (por ejemplo, un complejo de B7-H7 humano nativo/B7-H7 humano nativo) e inhiben o reducen la unión de un polipéptido de B7-H7CR nativo a uno o más ligandos de B7-H7CR. Tales anticuerpos, según esta realización, pueden bloquear (estérica o no estéricamente) el B7-H7CR nativo para uno o más ligandos de B7-H7CR. En una realización específica, el anticuerpo reduce la unión del polipéptido de B7-H7CR nativo para uno o más ligandos de B7-H7CR nativo en al menos el 10%, el 15%, el 25%, el 30%, el 40%, el 50%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 10% y el 25%, el 10% y el 50%, el 10% y el 75%, el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 25% y el 98%, el 50% y el 98% o el 75% y el 100% en relación con un control negativo (por ejemplo, unión del polipéptido de B7-H7CR nativo a uno o más ligandos de B7-H7CR nativo en ausencia del anticuerpo o en presencia de un anticuerpo de control negativo que se sabe que no se une a B7-H7) tal como se determina mediante métodos bien conocidos en la técnica, por ejemplo, ELISA, ensayos basados en células incluyendo citometría de flujo, ensayo KinEx A y ensayo de resonancia de plasmón superficial (por ejemplo, ensayo BIAcore®). En determinadas realizaciones, un anticuerpo que se une específicamente a un complejo de B7-H7CR/B7-H7 inhibe o reduce la unión de B7-H7 nativo a uno o más de sus receptores. Tales anticuerpos pueden bloquear (estérica o no estéricamente) la unión de B7-H7 nativo a uno o más de sus receptores.

En otro aspecto, se presentan en el presente documento anticuerpos que se unen a B7-H7 y neutralizan B7-H7. En otro aspecto, se presentan en el presente documento anticuerpos que se unen a B7-H7CR y neutralizan B7-H7CR.

En determinadas realizaciones, un anticuerpo descrito en esta sección comprende un dominio Fc modificado. Se describen modificaciones del dominio Fc a modo de ejemplo en Mueller *et al.*, 1997, *Molecular Immunology* 34(6):441-452; Swann *et al.*, 2008, *Current Opinion in Immunology* 20:493-499; y Presta, 2008, *Current Opinion in Immunology* 20:460-470.

En algunos aspectos, se presentan en el presente documento anticuerpos que se unen a B7-H7 y aumentan la degradación.

Los anticuerpos que se unen específicamente al polipéptido de B7-H7, polipéptido de B7-H7CR o al complejo de B7-H7/B7-H7CR pueden producirse mediante cualquier método bien conocido en la técnica, por ejemplo, tal como se describe en las patentes estadounidenses n.ºs 5.807.715, 6.331.415 y 6.818.216; las publicaciones de solicitud de patente estadounidense n.ºs US 2002/0098189, US 2004/0028685, US 2005/0019330, US 2006/0115485 y US 2007/0086943; las publicaciones internacionales n.ºs WO 02/46237 y WO 04/010935; y Harlow *et al.*, *Antibodies. A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2ª ed. 1988); Hammerling, *et al.*, en: *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981) (dichas referencias se incorporan como referencia en el presente documento en su totalidad).

En una realización específica, se presenta en el presente documento el anticuerpo monoclonal designado 2D3. Este anticuerpo, tal como se comenta en la sección de ejemplos a continuación, se generó a partir de un hibridoma derivado de la fusión de mieloma SP2 con células B de un ratón inmunizado con B7-H7-Ig humano. En otra realización específica, se presenta en el presente documento el anticuerpo monoclonal designado 4-5. Este anticuerpo, tal como se comenta en la sección de ejemplos, se generó a partir de un hibridoma derivado de la fusión de mieloma SP2 con células B de un hámster inmunizado con B7-H7CR-Ig humano. En el presente documento se abarcan fragmentos de unión a antígeno (por ejemplo, fragmentos Fab, fragmentos F(ab')<sub>2</sub>, fragmentos F(ab')<sub>2</sub>) del anticuerpo designado 2D3 o 4-5.

En otro aspecto, se presentan en el presente documento anticuerpos (tales como anticuerpos monoclonales) que compiten con el anticuerpo 2D3 o el anticuerpo 4-5 por la unión a un polipéptido de B7-H7 nativo o un polipéptido de B7-H7CR nativo, respectivamente. Pueden usarse ensayos de competición conocidos por un experto en la técnica para evaluar la competición del anticuerpo 2D3 o el anticuerpo 4-5 por la unión a un polipéptido de B7-H7 nativo o polipéptido de B7-H7CR nativo, respectivamente. Por ejemplo, puede usarse un inmunoensayo (por ejemplo, un ELISA) en un formato competitivo.

En otro aspecto, se presentan en el presente documento anticuerpos que se unen específicamente a un polipéptido de B7-H7 que comprenden una cadena ligera variable (VL) y/o una cadena pesada variable (VH) del anticuerpo 2D3. En una realización, un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido de B7-H7 comprende la cadena VL o cadena VH del anticuerpo 2D3. En otra realización, un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido de

B7-H7 comprende la cadena VL del anticuerpo 2D3 y la cadena VH de otro anticuerpo. En otra realización, un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido de B7-H7 comprende la cadena VH del anticuerpo 2D3 y la cadena VL de otro anticuerpo. En una realización específica, un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido de B7-H7 comprende la cadena VL del anticuerpo 2D3 y la cadena VH del anticuerpo 2D3.

5 En otro aspecto, se presentan en el presente documento anticuerpos que se unen específicamente a un polipéptido de B7-H7 que comprenden un dominio VL y/o un dominio VH del anticuerpo 2D3. En una realización, un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido de B7-H7 comprende el dominio VL o dominio VH del anticuerpo 2D3. En otra realización, un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido de B7-H7 comprende el dominio VL del anticuerpo 2D3 y el dominio VH de otro anticuerpo. En otra realización, un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido de B7-H7 comprende el dominio VH del anticuerpo 2D3 y el dominio VL de otro anticuerpo. En una realización específica, un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido de B7-H7 comprende el dominio VL del anticuerpo 2D3 y el dominio VH del anticuerpo 2D3.

15 En otro aspecto, se presentan en el presente documento anticuerpos que se unen específicamente a un polipéptido de B7-H7CR que comprenden una cadena VL y/o una cadena VH del anticuerpo 4-5. En una realización, un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido de B7-H7CR comprende la cadena VL o cadena VH del anticuerpo 4-5. En otra realización, un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido de B7-H7CR comprende la cadena VL del anticuerpo 4-5 y la cadena VH de otro anticuerpo. En otra realización, un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido de B7-H7CR comprende la cadena VH del anticuerpo 4-5 y la cadena VL de otro anticuerpo. En una realización específica, un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido de B7-H7CR comprende la cadena VL del anticuerpo 4-5 y la cadena VH del anticuerpo 4-5.

25 En otro aspecto, se presentan en el presente documento anticuerpos que se unen específicamente a un polipéptido de B7-H7CR que comprenden un dominio VL y/o un dominio VH del anticuerpo 4-5. En una realización, un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido de B7-H7CR comprende el dominio VL o dominio VH del anticuerpo 4-5. En otra realización, un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido de B7-H7CR comprende el dominio VL del anticuerpo 4-5 y el dominio VH de otro anticuerpo. En otra realización, un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido de B7-H7CR comprende el dominio VH del anticuerpo 4-5 y el dominio VL de otro anticuerpo. En una realización específica, un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido de B7-H7CR comprende el dominio VL del anticuerpo 4-5 y el dominio VH del anticuerpo 4-5.

35 En otro aspecto, se presentan en el presente documento anticuerpos que se unen específicamente a B7-H7 que comprenden una, dos o tres regiones determinantes de complementariedad (CDR) de la cadena pesada variable (CDR de VH) del anticuerpo 2D3 y/o una, dos o tres CDR de la cadena ligera variable (CDR de VL) del anticuerpo 2D3. En determinadas realizaciones, un anticuerpo que se une específicamente a B7-H7, comprende (o alternativamente, consiste en) una CDR1 de VH y una CDR1 de VL; una CDR1 de VH y una CDR2 de VL; una CDR1 de VH y una CDR3 de VL; una CDR2 de VH y una CDR1 de VL; CDR2 de VH y una CDR2 de VL; una CDR2 de VH y una CDR3 de VL; una CDR3 de VH y una CDR1 de VL; una CDR3 de VH y una CDR2 de VL; una CDR3 de VH y una CDR3 de VL; una CDR1 de VH1, una CDR2 de VH y una CDR1 de VL; una CDR1 de VH, una CDR2 de VH y una CDR2 de VL; una CDR1 de VH, una CDR2 de VH y una CDR3 de VL; una CDR2 de VH, una CDR3 de VH y una CDR1 de VL; una CDR2 de VH, una CDR3 de VH y una CDR2 de VL; una CDR2 de VH, una CDR3 de VH y una CDR2 de VL; una CDR1 de VH, una CDR1 de VL y una CDR2 de VL; una CDR2 de VH, una CDR1 de VL y una CDR2 de VL; una CDR2 de VH, una CDR1 de VL y una CDR3 de VL; una CDR3 de VH, una CDR1 de VL y una CDR2 de VL; una CDR3 de VH, una CDR1 de VL y una CDR3 de VL; una CDR1 de VH, una CDR2 de VH, una CDR3 de VH y una CDR1 de VL; una CDR1 de VH, una CDR2 de VH, una CDR3 de VH y una CDR2 de VL; una CDR1 de VH, una CDR2 de VH, una CDR3 de VH y una CDR3 de VL; una CDR1 de VH, una CDR2 de VH, una CDR1 de VL y una CDR2 de VL; una CDR1 de VH, una CDR2 de VH, una CDR1 de VL y una CDR3 de VL; una CDR1 de VH, una CDR3 de VH, una CDR1 de VL y una CDR3 de VL; una CDR2 de VH, una CDR3 de VH, una CDR2 de VL y una CDR3 de VL; una CDR1 de VH, una CDR2 de VH, una CDR3 de VH, una CDR1 de VL y una CDR2 de VL; una CDR1 de VH, una CDR2 de VH, una CDR1 de VL, una CDR2 de VL y una CDR3 de VL; una CDR2 de VH, una CDR3 de VH, una CDR1 de VL, una CDR2 de VL y una CDR3 de VL; o cualquier combinación de las mismas de las CDR de VH y CDR de VL del anticuerpo 2D3.

60 En otro aspecto, se presentan en el presente documento anticuerpos que se unen específicamente a un polipéptido de B7-H7CR que comprenden una, dos o tres regiones determinantes de complementariedad (CDR) de la cadena pesada variable (CDR de VH) del anticuerpo 4-5 y/o una, dos o tres CDR de la cadena ligera variable (CDR de VL) del anticuerpo 4-5. En determinadas realizaciones, un anticuerpo que se une específicamente a B7-H7CR, comprende (o alternativamente, consiste en) una CDR1 de VH y una CDR1 de VL; una CDR1 de VH y una CDR2 de VL; una CDR1 de VH y una CDR3 de VL; una CDR2 de VH y una CDR1 de VL; CDR2 de VH y una CDR2 de VL; una CDR2 de VH y una CDR3 de VL; una CDR3 de VH y una CDR1 de VL; una CDR3 de VH y una CDR2 de VL; una CDR3 de VH y una CDR3 de VL; una CDR1 de VH1, una CDR2 de VH y una CDR1 de VL; una CDR1 de VH, una CDR2 de VH y una CDR1 de VL; una CDR1 de VH, una CDR2 de VH y una CDR3 de VL; una CDR2 de VH, una CDR3 de VH y una CDR1 de VL; una CDR2 de VH, una CDR3 de VH y una CDR2 de VL; una CDR1 de VH, una CDR1 de VL y una CDR2 de VL; una CDR2 de VH, una CDR1 de VL y una CDR2 de VL; una CDR2 de VH, una CDR1 de VL y una CDR3 de VL; una CDR3 de VH, una CDR1 de VL y una CDR2 de VL; una CDR3 de VH, una CDR1 de VL y una CDR3 de VL; una CDR1 de VH, una CDR2 de VH, una CDR3 de VH y una CDR1 de VL; una CDR1 de VH, una CDR2 de VH, una CDR3 de VH y una CDR2 de VL; una CDR1 de VH, una CDR2 de VH, una CDR3 de VH y una CDR3 de VL; una CDR1 de VH, una CDR2 de VH, una CDR1 de VL y una CDR2 de VL; una CDR1 de VH, una CDR2 de VH, una CDR1 de VL, una CDR2 de VL y una CDR3 de VL; una CDR2 de VH, una CDR3 de VH, una CDR1 de VL, una CDR2 de VL y una CDR3 de VL; o cualquier combinación de las mismas de las CDR de VH y CDR de VL del anticuerpo 4-5.



pesada. El anticuerpo humanizado puede seleccionarse de cualquier clase de inmunoglobulinas, incluyendo IgM, IgG, IgD, IgA e IgE, y cualquier isotipo, incluyendo IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. Habitualmente, el dominio constante es un dominio constante de fijación de complemento donde se desea que el anticuerpo humanizado presente actividad citotóxica, y la clase es normalmente IgG1. Cuando tal actividad citotóxica no es deseable, el dominio constante puede ser de la clase IgG2. Los ejemplos de dominios constantes VL y VH que pueden usarse en determinadas realizaciones incluyen, pero no se limitan a, C-kappa y C-gamma-1 (nGlm) descritos en Johnson *et al.* (1997) J. Infect. Dis. 176, 1215-1224 y los descritos en la patente estadounidense n.º 5.824.307. El anticuerpo humanizado puede comprender secuencias de más de una clase o isotipo, y la selección de dominios constantes particulares para optimizar funciones efectoras deseadas está dentro de la experiencia habitual en la técnica. La región de entramado y las regiones CDR de un anticuerpo humanizado no han de corresponderse de manera precisa con las secuencias originales, por ejemplo, la CDR donadora o la región de entramado de consenso pueden mutagenizarse mediante sustitución, inserción o delección de al menos un residuo de modo que el residuo de región de entramado o CDR en el sitio no se corresponde con o bien el anticuerpo de consenso o bien el anticuerpo de importación. Tales mutaciones, sin embargo, no serán extensivas. Habitualmente, al menos el 75% de los residuos del anticuerpo humanizado se corresponderán con los de la región de entramado (FR) y secuencias CDR originales, más a menudo el 90%, y lo más preferiblemente más del 95%. Pueden producirse anticuerpos humanizados usando una variedad de técnicas conocidas en la técnica, incluyendo pero sin limitarse a, injerto de CDR (patente europea n.º EP 239.400; publicación internacional n.º WO 91/09967; y patentes estadounidenses n.ºs 5.225.539, 5.530.101 y 5.585.089), remodelación de superficie o modelación de superficie (patentes europeas n.ºs EP 592.106 y EP 519.596; Padlan, 1991, Molecular Immunology 28(4/5):489-498; Studnicka *et al.*, 1994, Protein Engineering 7(6):805-814; y Roguska *et al.*, 1994, PNAS 91:969-973), intercambio de cadenas (patente estadounidense n.º 5.565.332) y técnicas dadas a conocer en, por ejemplo, la patente estadounidense n.º 6.407.213, la patente estadounidense n.º 5.766.886, el documento WO 9317105, Tan *et al.*, J. Immunol. 169:1119 25 (2002), Caldas *et al.*, Protein Eng. 13(5):353-60 (2000), Morea *et al.*, Métodos 20(3):267 79 (2000), Baca *et al.*, J. Biol. Chem. 272(16):10678-84 (1997), Roguska *et al.*, Protein Eng. 9(10):895 904 (1996), Couto *et al.*, Cancer Res. 55 (23 sup.): 5973s-5977s (1995), Couto *et al.*, Cancer Res. 55(8):1717-22 (1995), Sandhu JS, Gene 150(2):409-10 (1994) y Pedersen *et al.*, J. Mol. Biol. 235(3):959-73 (1994). Véase también la publicación de patente estadounidense n.º US 2005/0042664 A1 (24 de febrero de 2005), que se incorpora como referencia en el presente documento en su totalidad. A menudo, se sustituirán residuos de región de entramado en las regiones de entramado por el residuo correspondiente del anticuerpo donador de CDR para alterar, preferiblemente mejorar, la unión a antígeno. Estas sustituciones de región de entramado se identifican mediante métodos bien conocidos en la técnica, por ejemplo, mediante modelado de las interacciones de las CDR y residuos de región de entramado para identificar residuos de región de entramado importantes para la unión a antígeno y comparación de secuencias para identificar residuos de región de entramado inusuales en posiciones particulares. (Véanse, por ejemplo, Queen *et al.*, patente estadounidense n.º 5.585.089; y Reichmann *et al.*, 1988, Nature 332:323, que se incorporan en el presente documento como referencia en su totalidad.)

#### 5.1.1 Semivida aumentada

En un aspecto, los anticuerpos presentados en el presente documento se modifican para que tengan una semivida prolongada (o aumentada) *in vivo*. En una realización, se presentan en el presente documento anticuerpos que tienen una semivida en un sujeto, preferiblemente un mamífero y lo más preferiblemente un ser humano, de desde aproximadamente 3 días hasta aproximadamente 180 días (o más), y en algunas realizaciones mayor de 3 días, mayor de 7 días, mayor de 10 días, mayor de 15 días, mayor de 20 días, mayor de 25 días, mayor de 30 días, mayor de 35 días, mayor de 40 días, mayor de 45 días, mayor de 50 días, al menos aproximadamente 60 días, mayor de 75 días, mayor de 90 días, mayor de 105 días, mayor de 120 días, mayor de 135 días, mayor de 150 días, mayor de 165 días o mayor de 180 días.

En una realización específica, se generan anticuerpos modificados que tienen una semivida aumentada *in vivo* introduciendo una o más modificaciones de aminoácido (es decir, sustituciones, inserciones o delecciones) en un dominio constante de IgG, o fragmento de unión a FcRn del mismo (preferiblemente un fragmento de dominio Fc o Fc bisagra). Véanse, por ejemplo, las publicaciones internacionales n.ºs WO 02/060919; WO 98/23289; y WO 97/34631; y la patente estadounidense n.º 6.277.375; cada una de las cuales se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad. En una realización específica, los anticuerpos pueden tener una o más modificaciones de aminoácido en el segundo dominio constante (es decir, el dominio CH2 en, por ejemplo, los residuos 231-340 de IgG1 humana) y/o el tercer dominio constante (es decir, el dominio CH3 en, por ejemplo, los residuos 341-447 de IgG1 humana), con numeración según el sistema de numeración de Kabat (por ejemplo, el índice UE en Kabat).

En algunas realizaciones, para prolongar la circulación sérica *in vivo* de anticuerpos, se unen moléculas de polímero inertes tales como polietilenglicol de alto peso molecular (PEG) a los anticuerpos con o sin un ligador multifuncional o bien a través de conjugación específica de sitio del PEG al extremo N- o C-terminal de los anticuerpos o bien mediante grupos épsilon-amino presentes en los residuos de lisina. Se usará la derivatización de polímeros lineales o ramificados que da como resultado pérdidas mínimas de actividad biológica. El grado de conjugación puede monitorizarse estrechamente mediante SDS-PAGE y espectrometría de masas para garantizar una conjugación adecuada de moléculas de PEG a los anticuerpos. Puede separarse PEG sin reaccionar de conjugados de

anticuerpo-PEG mediante exclusión molecular o mediante cromatografía de intercambio iónico. Pueden someterse a prueba anticuerpos derivatizados con PEG para determinar la actividad de unión así como para determinar la eficacia *in vivo* usando métodos bien conocidos por los expertos en la técnica, por ejemplo, mediante inmunoensayos descritos en el presente documento.

En otra realización, los anticuerpos se conjugan con albúmina con el fin de hacer que el anticuerpo sea más estable *in vivo* o para que tenga una semivida *in vivo* más larga. Las técnicas se conocen bien en la técnica, véanse, por ejemplo, las publicaciones internacionales n.ºs WO 93/15199, WO 93/15200 y WO 01/77137; y la patente europea n.º EP 413.622, todas las cuales se incorporan en el presente documento como referencia.

### 5.1.2 Conjugado de anticuerpo

En algunas realizaciones, los anticuerpos se conjugan o fusionan de manera recombinante con un agente de diagnóstico, detectable o terapéutico o cualquier otra molécula. Cuando se desea aumentar la semivida *in vivo*, dichos anticuerpos puede modificarse. Los anticuerpos conjugados o fusionados de manera recombinante pueden ser útiles, por ejemplo, para detectar tejidos o células que expresan polipéptido de B7-H7 o polipéptido de B7-H7CR. En una realización específica, un método para detectar células o tejido que expresan B7-H7, comprende poner en contacto un anticuerpo que se une específicamente a B7-H7 con células o tejidos de un sujeto y detectar las células o tejidos a los que se une el anticuerpo. En una realización específica, un método para detectar células o tejido que expresan B7-H7CR, comprende poner en contacto un anticuerpo que se une específicamente a B7-H7CR con células o tejidos del sujeto y detectar las células o tejidos a los que se une el anticuerpo. Según tales realizaciones, el anticuerpo puede conjugarse con un resto detectable y la unión de un anticuerpo a células o tejidos puede detectarse mediante la detección de la presencia del resto detectable. Alternativamente, la unión del anticuerpo a células o tejidos puede detectarse mediante la detección usando un anticuerpo secundario marcado que se une al anticuerpo y detectando la presencia del anticuerpo secundario marcado. En determinadas realizaciones, después de incubar células o tejido con el anticuerpo adecuado, se elimina el anticuerpo no unido mediante uno o más lavados antes de detectar las células o tejido a los que se une el anticuerpo. En algunas realizaciones, los métodos para detectar células o tejidos que expresan B7-H7 o B7-H7CR incluyen el uso de controles positivos y/o negativos. Por ejemplo, pueden usarse células o tejidos que se sabe que expresan B7-H7 o B7-H7CR en los métodos como control positivo y pueden usarse células o tejidos que se sabe que no expresan B7-H7 o B7-H7CR en los métodos como control negativo. Los ejemplos de restos detectables incluyen, pero no se limitan a, diversas enzimas, tales como, pero sin limitarse a, peroxidasa del rábano, fosfatasa alcalina, beta-galactosidasa o acetilcolinesterasa; grupos prostéticos, tales como, pero sin limitarse a, estreptavidina/biotina y avidina/biotina; materiales fluorescentes, tales como, pero sin limitarse a, umbeliferona, fluoresceína, isotiocinato de fluoresceína, rodamina, diclorotriazinilamina, fluoresceína, cloruro de dansilo o ficoeritrina; materiales luminiscentes, tales como, pero sin limitarse a, luminol; materiales bioluminiscentes, tales como pero sin limitarse a, luciferasa, luciferina y aecorina; materiales radiactivos, tales como, pero sin limitarse a, yodo ( $^{131}\text{I}$ ,  $^{125}\text{I}$  y  $^{121}\text{I}$ ), carbono ( $^{14}\text{C}$ ), azufre ( $^{35}\text{S}$ ), tritio ( $^3\text{H}$ ), indio ( $^{115}\text{In}$ ,  $^{112}\text{In}$  y  $^{111}\text{In}$ ), tecnecio ( $^{99}\text{Tc}$ ), talio ( $^{201}\text{Tl}$ ), galio ( $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{67}\text{Ga}$ ), paladio ( $^{103}\text{Pd}$ ), molibdeno ( $^{88}\text{Mo}$ ), xenón ( $^{133}\text{Xe}$ ), flúor ( $^{18}\text{F}$ ),  $^{153}\text{Sm}$ ,  $^{177}\text{Lu}$ ,  $^{199}\text{Gd}$ ,  $^{149}\text{Pm}$ ,  $^{140}\text{La}$ ,  $^{175}\text{Yb}$ ,  $^{166}\text{Ho}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{47}\text{Sc}$ ,  $^{186}\text{Re}$ ,  $^{188}\text{Re}$ ,  $^{142}\text{Pr}$ ,  $^{105}\text{Rh}$ ,  $^{97}\text{Ru}$ ,  $^{68}\text{Ge}$ ,  $^{57}\text{Co}$ ,  $^{65}\text{Zn}$ ,  $^{85}\text{Sr}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{153}\text{Gd}$ ,  $^{169}\text{Yb}$ ,  $^{51}\text{Cr}$ ,  $^{54}\text{Mn}$ ,  $^{75}\text{Se}$ ,  $^{113}\text{Sn}$  y  $^{117}\text{Sn}$ , y metales que emiten positrones que usan diversas tomografías de emisión de positrones, e iones de metales paramagnéticos no radiactivos.

En el presente documento se abarcan anticuerpos fusionados de manera recombinante o conjugados químicamente (incluyendo tanto conjugaciones covalentes como no covalentes) con una proteína o polipéptido heterólogo (o fragmento del mismo, preferiblemente con un polipéptido de aproximadamente 5, aproximadamente 10, aproximadamente 20, aproximadamente 30, aproximadamente 40, aproximadamente 50, aproximadamente 60, aproximadamente 70, aproximadamente 80, aproximadamente 90 o aproximadamente 100 aminoácidos) para generar proteínas de fusión. En particular, se proporcionan en el presente documento proteínas de fusión que comprenden un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo monoclonal (por ejemplo, un fragmento Fab, fragmento Fd, fragmento Fv, fragmento F(ab)2, un dominio VH, una CDR de VH, un dominio VL o una CDR de VL) y una proteína, polipéptido o péptido heterólogo. En una realización específica, la proteína, polipéptido o péptido heterólogo con el que se fusiona el anticuerpo es útil para dirigir el anticuerpo a un tipo de célula particular.

En el presente documento se abarcan usos de los anticuerpos conjugados o fusionados de manera recombinante con un resto terapéutico o resto de fármaco que modifica una respuesta biológica dada. Los restos terapéuticos o restos de fármaco no han de interpretarse como limitados a los agentes terapéuticos químicos clásicos. Por ejemplo, el resto de fármaco puede ser un péptido o polipéptido que presenta una actividad biológica deseada. Tales proteínas pueden incluir, por ejemplo, interferón- $\gamma$ , interferón- $\beta$ , interferón- $\alpha$ , interleucina-2 ("IL-2"), interleucina-7 ("IL-7"), interleucina 9 ("IL-9"), interleucina-10 ("IL-10"), interleucina-12 ("IL-12"), interleucina-15 ("IL-15"), interleucina-23 ("IL-23"), factor estimulante de colonias de macrófagos y granulocitos ("GM-CSF"), factor estimulante de colonias de granulocitos ("G-CSF") o un factor de crecimiento. El resto terapéutico o fármaco conjugado o fusionado de manera recombinante con un anticuerpo debe elegirse para lograr el/los efecto(s) profiláctico(s) o terapéutico(s) deseado(s). Un médico u otro personal médico debe considerar lo siguiente a la hora de decir qué resto terapéutico o fármaco conjugado o fusionado de manera recombinante con un anticuerpo: la naturaleza de la enfermedad, la gravedad de la enfermedad y el estado del sujeto.

- Además, los anticuerpos pueden fusionarse con secuencias de marcador, tales como un péptido para facilitar la purificación. En realizaciones preferidas, la secuencia de aminoácidos de marcador es un péptido de hexa-histidina, tal como la etiqueta proporcionada en un vector pQE (QIAGEN, Inc.), entre otros, muchos de los cuales están disponibles comercialmente. Tal como se describe en Gentz *et al.*, 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:821-824, por ejemplo, la hexa-histidina proporciona una purificación conveniente de la proteína de fusión. Otras etiquetas de péptido útiles para la purificación incluyen, pero no se limitan a, la etiqueta hemaglutinina ("HA"), que se corresponde con un epítipo derivado de la proteína hemaglutinina de la gripe (Wilson *et al.*, 1984, Cell 37:767), y la etiqueta "flag".
- Los métodos para fusionar o conjugar restos terapéuticos (incluyendo polipéptidos) con anticuerpos se conocen bien, véanse, por ejemplo, Arnon *et al.*, "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy", en Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy, Reisfeld *et al.* (eds.), págs. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. 1985); Hellstrom *et al.*, "Antibodies For Drug Delivery", en Controlled Drug Delivery (2ª ed.), Robinson *et al.* (eds.), págs. 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review", en Monoclonal Antibodies 84: Biological And Clinical Applications, Pinchera *et al.* (ed.), págs. 475-506 (1985); "Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy", en Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy, Baldwin *et al.* (ed.), págs. 303-16 (Academic Press 1985), Thorpe *et al.*, 1982, Immunol. Rev. 62:119-58; patentes estadounidenses n.ºs 5.336.603, 5.622.929, 5.359.046, 5.349.053, 5.447.851, 5.723.125, 5.783.181, 5.908.626, 5.844.095 y 5.112.946; documentos EP 307.434; EP 367.166; EP 394.827; publicaciones internacionales n.ºs WO 91/06570, WO 96/04388, WO 96/22024, WO 97/34631 y WO 99/04813; Ashkenazi *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88: 10535-10539, 1991; Traunecker *et al.*, Nature, 331:84-86, 1988; Zheng *et al.*, J. Immunol., 154:5590-5600, 1995; Vil *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:11337-11341, 1992; que se incorporan en el presente documento como referencia en su totalidad.
- En particular, pueden generarse proteínas de fusión, por ejemplo, a través de las técnicas de intercambio génico, intercambio de motivos, intercambio de exones y/o intercambio de codones (denominados conjuntamente "intercambio de ADN"). Puede emplearse intercambio de ADN para alterar las actividades de los anticuerpos monoclonales descritos en el presente documento o generados según los métodos proporcionados en el presente documento (por ejemplo, anticuerpos con mayores afinidades y menores tasas de disociación). Véanse, en general, las patentes estadounidenses n.ºs 5.605.793, 5.811.238, 5.830.721, 5.834.252 y 5.837.458; Patten *et al.*, 1997, Curr. Opin. Biotechnol. 8:724-33; Harayama, 1998, Trends Biotechnol. 16(2):76-82; Hansson, *et al.*, 1999, J. Mol. Biol. 287:265-76; y Lorenzo y Blasco, 1998, Biotechniques 24(2):308-313 (cada una de estas y publicaciones se incorporan en el presente documento como referencia en su totalidad). Pueden alterarse anticuerpos, o los anticuerpos codificados, someténdolos a mutagénesis aleatoria mediante PCR propensa a errores, inserción de nucleótidos aleatoria u otros métodos antes de la recombinación. Un polinucleótido que codifica para un anticuerpo monoclonal descrito en el presente documento o generado según los métodos proporcionados en el presente documento puede recombinarse con uno o más componentes, motivos, secciones, partes, dominios, fragmentos, etc. de una o más moléculas heterólogas.
- Un anticuerpo también puede conjugarse con un segundo anticuerpo para formar un heteroconjugado de anticuerpo tal como se describe por Segal en la patente estadounidense n.º 4.676.980, que se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad.
- Un anticuerpo también puede unirse a dos, tres o más anticuerpos para formar un anticuerpo biespecífico o multiespecífico.
- Un anticuerpo también puede unirse a soportes sólidos, que son particularmente útiles para inmunoensayos o purificación de un antígeno. Tales soportes sólidos incluyen, pero no se limitan a, vidrio, celulosa, poliacrilamida, nailon, poliestireno, poli(cloruro de vinilo) o polipropileno.
- En determinadas realizaciones, un anticuerpo descrito en esta sección comprende un dominio Fc modificado. Se describen modificaciones del dominio Fc a modo de ejemplo en Mueller *et al.*, 1997, Molecular Immunology 34(6):441-452; Swann *et al.*, 2008, Current Opinion in Immunology 20:493-499; y Presta, 2008, Current Opinion in Immunology 20:460-470.
- ## 5.2 AGENTES TERAPÉUTICOS QUE MODULAN LA INTERACCIÓN DE B7-H7 Y B7-H7CR
- En un aspecto, se presentan en el presente documento agentes terapéuticos que modulan una o más de las rutas de transducción de señales mediadas por un polipéptido de B7-H7 nativo que se une a uno o más de sus ligandos (por ejemplo, B7-H7CR). En otro aspecto, se presentan en el presente documento agentes terapéuticos que modulan una o más de las rutas de transducción de señales mediadas por un B7-H7CR nativo que se une a uno o más de sus ligandos (por ejemplo, B7-H7). En una realización específica, se presentan en el presente documento agentes terapéuticos que modulan una o más de las rutas de transducción de señales inducidas cuando un polipéptido de B7-H7 nativo se une a un polipéptido de B7-H7CR nativo. En otra realización específica, un agente terapéutico modula la interacción entre un polipéptido de B7-H7CR nativo y un polipéptido de B7-H7 nativo. En otro aspecto, se presentan en el presente documento agentes terapéuticos que modulan la expresión de un polipéptido

de B7-H7CR nativo o un polipéptido de B7-H7 nativo. En una realización específica, un agente terapéutico modula selectivamente la expresión de un polipéptido de B7-H7CR nativo o un polipéptido de B7-H7 nativo. Véanse las secciones 5.2.1 a 5.2.6, más adelante, para ejemplos específicos de agentes terapéuticos.

- 5 En una realización específica, se modulan una o más rutas de transducción de señales poniendo en contacto un agente terapéutico con una célula inmunitaria o una población de células inmunitarias. En otra realización, se modula la interacción entre B7-H7 y uno o más de sus receptores (por ejemplo, B7-H7CR) poniendo en contacto un agente terapéutico con una célula inmunitaria o una población de células inmunitarias. En otra realización, se modula la interacción entre B7-H7CR y sus ligandos (por ejemplo, B7-H7) poniendo en contacto un agente terapéutico con una célula inmunitaria o una población de células inmunitarias. En otra realización, se modula la expresión de B7-H7 o B7-H7CR poniendo en contacto un agente terapéutico con una célula inmunitaria o una población de células inmunitarias que expresan B7-H7 o B7-H7CR, respectivamente.

- 15 En una realización específica, un agente terapéutico modula una o más de las rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a B7-H7CR. En determinadas realizaciones, un agente terapéutico modula selectivamente una o más rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a B7-H7CR. En determinadas realizaciones, un agente terapéutico induce selectivamente una o más de las rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a B7-H7CR. En realizaciones específicas, un agente terapéutico induce una o más de las rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a B7-H7CR en al menos el 25%, el 30%, el 40%, el 50%, el 60%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 50% y el 75%, el 50% y el 95%, el 75% y el 95% o el 75% y el 100% en relación con la una o más rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a B7-H7CR en ausencia del agente terapéutico. En realizaciones específicas, un agente terapéutico: (i) induce una o más de las rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a B7-H7CR en al menos el 25%, el 30%, el 40%, el 50%, el 60%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 50% y el 75%, el 50% y el 95%, el 75% y el 95% o el 75% y el 100% en relación con la una o más rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a B7-H7CR en ausencia del agente terapéutico; y (ii) no induce, o induce una o más de las rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7CR a uno más de otros ligandos en menos del 20%, el 15%, el 10%, el 5% o el 2%, o en el intervalo de entre el 2% y el 5%, el 2% y el 10%, el 5% y el 10%, el 5% y el 15%, el 5% y el 20%, el 10% y el 15% o el 15% y el 20% en relación con la una o más rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7CR a uno más de otros ligandos de este tipo en ausencia del agente terapéutico.

- 35 En realizaciones específicas, un agente terapéutico: (i) induce una o más de las rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a B7-H7CR en al menos el 25%, el 30%, el 40%, el 50%, el 60%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 50% y el 75%, el 50% y el 95%, el 75% y el 95% o el 75% y el 100% en relación con la una o más rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a B7-H7CR en ausencia del agente terapéutico; y (ii) no induce, o induce una o más de las rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a uno o más de otros receptores en menos del 20%, el 15%, el 10%, el 5% o el 2%, o en el intervalo de entre el 2% y el 5%, el 2% y el 10%, el 5% y el 10%, el 5% y el 15%, el 5% y el 20%, el 10% y el 15% o el 15% y el 20% en relación con la una o más rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a uno o más de otros receptores de este tipo en ausencia del agente terapéutico.

- 45 En determinadas realizaciones, un agente terapéutico activa o potencia selectivamente una o más de las rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a B7-H7CR. En realizaciones específicas, un agente terapéutico activa o potencia una o más de las rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a B7-H7CR en al menos el 25%, el 30%, el 40%, el 50%, el 60%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 50% y el 75%, el 50% y el 95%, el 75% y el 95% o el 75% y el 100% en relación con la una o más rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a B7-H7CR en ausencia del agente terapéutico. En realizaciones específicas, un agente terapéutico: (i) activa o potencia una o más de las rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a B7-H7CR en al menos el 25%, el 30%, el 40%, el 50%, el 60%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 50% y el 75%, el 50% y el 95%, el 75% y el 95% o el 75% y el 100% en relación con la una o más rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a B7-H7CR en ausencia del agente terapéutico; y (ii) no activa ni potencia, o activa o potencia una o más de las rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a uno o más de otros receptores en menos del 20%, el 15%, el 10%, el 5% o el 2%, o en el intervalo de entre el 2% y el 5%, el 2% y el 10%, el 5% y el 10%, el 5% y el 15%, el 5% y el 20%, el 10% y el 15% o el 15% y el 20% en relación con la una o más rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a uno o más de otros receptores de este tipo en ausencia del agente terapéutico.

- 65 En realizaciones específicas, un agente terapéutico: (i) activa o potencia una o más de las rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a B7-H7CR en al menos el 25%, el 30%, el 40%, el 50%, el 60%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 50% y el 75%, el 50% y el 95%, el 75% y el 95% o el 75% y el 100% en relación con la una o más rutas de transducción de

señales inducidas por la unión de B7-H7 a B7-H7CR en ausencia del agente terapéutico; y (ii) no activa ni potencia, o activa o potencia una o más de las rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7CR a uno más de otros ligandos en menos del 20%, el 15%, el 10%, el 5% o el 2%, o en el intervalo de entre el 2% y el 5%, el 2% y el 10%, el 5% y el 10%, el 5% y el 15%, el 5% y el 20%, el 10% y el 15% o el 15% y el 20% en relación con la una o más rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7CR a uno más de otros ligandos de este tipo en ausencia del agente terapéutico.

En algunas realizaciones, un agente terapéutico inhibe o reduce selectivamente una o más de las rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a B7-H7CR. En realizaciones específicas, un agente terapéutico inhibe o reduce una o más de las rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a B7-H7CR en al menos el 25%, el 30%, el 40%, el 50%, el 60%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 50% y el 75%, el 50% y el 95%, el 75% y el 95% o el 75% y el 100% en relación con la una o más rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a B7-H7CR en ausencia del agente terapéutico. En realizaciones específicas, un agente terapéutico: (i) inhibe o reduce una o más de las rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a B7-H7CR en al menos el 25%, el 30%, el 40%, el 50%, el 60%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 50% y el 75%, el 50% y el 95%, el 75% y el 95% o el 75% y el 100% en relación con la una o más rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a B7-H7CR en ausencia del agente terapéutico; y (ii) no inhibe ni reduce, o inhibe o reduce una o más de las rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a uno o más de otros receptores en menos del 20%, el 15%, el 10%, el 5% o el 2%, o en el intervalo de entre el 2% y el 5%, el 2% y el 10%, el 5% y el 10%, el 5% y el 15%, el 5% y el 20%, el 10% y el 15% o el 15% y el 20% en relación con la una o más rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a uno o más de otros receptores de este tipo en ausencia del agente terapéutico.

En realizaciones específicas, un agente terapéutico: (i) inhibe o reduce una o más de las rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a B7-H7CR en al menos el 25%, el 30%, el 40%, el 50%, el 60%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 50% y el 75%, el 50% y el 95%, el 75% y el 95% o el 75% y el 100% en relación con la una o más rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a B7-H7CR en ausencia del agente terapéutico; y (ii) no inhibe ni reduce, o inhibe o reduce una o más de las rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7CR a uno más de otros ligandos en menos del 20%, el 15%, el 10%, el 5% o el 2%, o en el intervalo de entre el 2% y el 5%, el 2% y el 10%, el 5% y el 10%, el 5% y el 15%, el 5% y el 20%, el 10% y el 15% o el 15% y el 20% en relación con la una o más rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7CR a uno más de otros ligandos de este tipo en ausencia del agente terapéutico.

En otra realización, un agente terapéutico modula la interacción del polipéptido de B7-H7 y el polipéptido de B7-H7CR. En determinadas realizaciones, el agente terapéutico modula selectivamente la interacción de B7-H7 y B7-H7CR. En otra realización, un agente terapéutico inhibe o reduce la unión de B7-H7 a B7-H7CR en al menos el 25%, el 30%, el 40%, el 50%, el 60%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 50% y el 75%, el 50% y el 95%, el 75% y el 95% o el 75% y el 100% en relación con la unión de B7-H7 a B7-H7CR en ausencia del agente terapéutico. En otra realización, un agente terapéutico: (i) inhibe o reduce la unión de B7-H7 a B7-H7CR en al menos el 25%, el 30%, el 40%, el 50%, el 60%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 50% y el 75%, el 50% y el 95%, el 75% y el 95% o el 75% y el 100% en relación con la unión de B7-H7 a B7-H7CR en ausencia del agente terapéutico, y (ii) no inhibe ni reduce, o inhibe o reduce la unión de B7-H7 a uno o más de otros receptores en menos del 20%, el 15%, el 10%, el 5% o el 2%, o en el intervalo de entre el 2% y el 5%, el 2% y el 10%, el 5% y el 10%, el 5% y el 15%, el 5% y el 20%, el 10% y el 15% o el 15% y el 20% en relación con la unión de B7-H7 a uno o más de otros receptores de este tipo en ausencia del agente terapéutico.

En otra realización, un agente terapéutico: (i) inhibe o reduce la unión de B7-H7 a B7-H7CR en al menos el 25%, el 30%, el 40%, el 50%, el 60%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 50% y el 75%, el 50% y el 95%, el 75% y el 95% o el 75% y el 100% en relación con la unión de B7-H7 a B7-H7CR en ausencia del agente terapéutico, y (ii) no inhibe ni reduce, o inhibe o reduce la unión de B7-H7CR a uno más de otros ligandos en menos del 20%, el 15%, el 10%, el 5% o el 2%, o en el intervalo de entre el 2% y el 5%, el 2% y el 10%, el 5% y el 10%, el 5% y el 15%, el 5% y el 20%, el 10% y el 15% o el 15% y el 20% en relación con la unión de B7-H7CR a uno o más de otros ligandos de este tipo en ausencia del agente terapéutico.

En determinadas realizaciones, los agentes terapéuticos inducen, activan o potencian una o más respuestas o funciones inmunitarias (es decir, los agentes son agentes terapéuticos inmunoestimulantes). En otras realizaciones, los agentes terapéuticos suprimen o reducen una o más respuestas o funciones inmunitarias (es decir, los agentes son agentes terapéuticos inhibidores). La modulación de una o más respuestas o funciones inmunitarias puede estar en forma de, por ejemplo, una respuesta de anticuerpos (respuesta humoral) o una respuesta inmunitaria celular, por ejemplo, secreción de citocinas (por ejemplo, interferón-gamma), actividad auxiliar o citotoxicidad celular. En una realización, se modula la secreción de citocinas, producción de anticuerpos, función efectora, proliferación de células T y/o proliferación de células NK tras el contacto con un agente terapéutico. En una realización específica, se

modulan una o más respuestas o funciones inmunitarias poniendo en contacto un agente terapéutico con una célula inmunitaria o una población de células inmunitarias.

#### 5.2.1 Anticuerpos específicos para B7-H7 o B7-H7CR

5 En un aspecto, el agente terapéutico es un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido de B7-H7 nativo y modula una o más de las rutas de transducción de señales mediadas por la unión del polipéptido de B7-H7 nativo a uno o más de sus ligandos (por ejemplo, B7-H7CR). En otro aspecto, el agente terapéutico es un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido de B7-H7CR nativo y modula una o más de las rutas de transducción de señales mediadas por el polipéptido de B7-H7CR nativo que se une uno o más de sus ligandos (por ejemplo, B7-H7). En algunas realizaciones, el agente terapéutico activa, potencia o induce una o más de las rutas de transducción de señales. En otras realizaciones, el agente terapéutico inhibe o reduce una o más de las rutas de transducción de señales. En otro aspecto, el agente terapéutico es un anticuerpo que modula una o más de las rutas de transducción de señales inducidas por la interacción del polipéptido de B7-H7 y el polipéptido de B7-H7CR. En una realización específica, un agente terapéutico es un anticuerpo que modula la interacción entre B7-H7CR y B7-H7. En una realización específica, el agente terapéutico es un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido de B7-H7 e inhibe o reduce la unión del polipéptido de B7-H7 al polipéptido de B7-H7CR. En otra realización específica, el agente terapéutico es un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido de B7-H7 e inhibe o reduce la unión del polipéptido de B7-H7CR al polipéptido de B7-H7. Véase la sección 5.1 y siguientes, anteriormente, para anticuerpos y conjugados o fusión de los mismos que modulan la interacción del polipéptido de B7-H7 y el polipéptido de B7-H7CR. En algunas realizaciones, tales anticuerpos son agentes terapéuticos inmuoestimulantes. En otras realizaciones, tales anticuerpos son agentes terapéuticos inhibidores.

25 En algunas realizaciones, un anticuerpo que modula la interacción del polipéptido de B7-H7 y el polipéptido de B7-H7CR induce al menos el 25%, el 30%, el 35%, el 40%, el 45%, el 50%, el 55%, el 60%, el 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 25% y el 98%, el 50% y el 75% o el 75% y el 100% de una o más de las rutas de transducción de señales inducidas cuando un polipéptido de B7-H7 de mamífero nativo se une a un receptor nativo de polipéptido de B7-H7 (por ejemplo, un polipéptido de B7-H7CR nativo), tal como se mide mediante ensayos bien conocidos en la técnica. En algunas realizaciones, un anticuerpo que modula la interacción del polipéptido de B7-H7 y el polipéptido de B7-H7CR activa o potencia en al menos el 25%, el 30%, el 35%, el 40%, el 45%, el 50%, el 55%, el 60%, el 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 25% y el 98%, el 50% y el 75% o el 75% y el 100% de una o más de las rutas de transducción de señales inducidas cuando un polipéptido de B7-H7 de mamífero nativo se une a un receptor nativo de polipéptido de B7-H7 (por ejemplo, un polipéptido de B7-H7CR nativo), tal como se mide mediante ensayos bien conocidos en la técnica. En otras realizaciones, un anticuerpo que modula la interacción del polipéptido de B7-H7 y el polipéptido de B7-H7CR no induce o induce menos del 20%, el 15%, el 10%, el 5% o el 2%, o en el intervalo de entre el 2% y el 20%, el 2% y el 15%, el 2% y el 10% o el 2% y el 5% de una o más de las rutas de transducción de señales inducidas cuando un polipéptido de B7-H7 de mamífero nativo se une a un receptor de polipéptido de B7-H7 (por ejemplo, un polipéptido de B7-H7CR nativo), tal como se mide mediante ensayos bien conocidos en la técnica. La una o más rutas de transducción de señales inducidas por la unión de un receptor nativo de B7-H7 (por ejemplo, polipéptido de B7-H7CR) a un polipéptido de B7-H7 pueden medirse, por ejemplo, evaluando la activación de un resto de transducción de señales (por ejemplo, activación de cinasa Jun, activación de cinasa MAP, activación de PKC), la translocación de un factor de transcripción (por ejemplo, NF-kappa B o Stat1) y la producción de citocinas (por ejemplo, IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-17, interferón-gamma o factor de necrosis tumoral alfa) usando técnicas tales como ELISA, inmunotransferencias de tipo Western, ensayos de desplazamiento de electromovilidad y otros inmunoensayos.

50 En determinadas realizaciones, un agente terapéutico es el anticuerpo designado 2D3, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o una forma humana o humanizada del mismo. En algunas realizaciones, un agente terapéutico es el anticuerpo designado 4-5, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o una forma humana o humanizada del mismo.

55 En determinadas realizaciones, un anticuerpo descrito en esta sección comprende un dominio Fc modificado. Se describen modificaciones del dominio Fc a modo de ejemplo en Mueller *et al.*, 1997, *Molecular Immunology* 34(6):441-452; Swann *et al.*, 2008, *Current Opinion in Immunology* 20:493-499; y Presta, 2008, *Current Opinion in Immunology* 20:460-470.

#### 5.2.2 Polipéptidos y derivados

##### 60 5.2.2.1 Polipéptidos y derivados de B7-H7

65 En un aspecto, un agente terapéutico es un polipéptido de B7-H7. En una realización, un agente terapéutico de este tipo modula una o más de las rutas de transducción de señales mediadas por B7-H7CR. En una realización, la proteína de B7-H7 se une a y agoniza la transducción de señales a través B7-H7CR. En otra realización, la proteína de B7-H7 se une a B7-H7CR y antagoniza la transducción de señales bloqueando la unión de un ligando nativo (por ejemplo, B7-H7). En una realización específica, un agente terapéutico de este tipo modula una o más de las rutas de

transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a B7-H7CR. En otra realización específica, un agente terapéutico de este tipo modula la interacción del polipéptido de B7-H7 y el polipéptido de B7-H7CR.

5 En otro aspecto, un agente terapéutico es un derivado de B7-H7. En una realización, un agente terapéutico es un derivado de B7-H7 que modula una o más rutas de transducción de señales mediadas por B7-H7CR. En una realización específica, un agente terapéutico es un derivado de B7-H7 que modula una o más de las rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a B7-H7CR. En otra realización, un agente terapéutico es un derivado de B7-H7 que modula la interacción del polipéptido de B7-H7 y el polipéptido de B7-H7CR. En determinadas realizaciones, el derivado de B7-H7 es un agente terapéutico inmunoestimulante. En otras  
10 realizaciones, el derivado de B7-H7 es un agente terapéutico inhibidor.

En realizaciones específicas, un derivado de B7-H7 es: (a) un polipéptido que es al menos el 40%, el 45%, el 50%, el 55%, el 60%, el 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o es del 40% al 65%, del 50% al 90%, del 65% al 90%, del 70% al 90%, del 75% al 95%, del 80% al 95% o del 85% al 99% idéntico a un polipéptido de B7-H7 de mamífero nativo; (b) un polipéptido codificado por una secuencia de ácido nucleico que es al menos el 40%, el 45%, el 50%, el 55%, el 60%, el 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o es del 40% al 65%, del 50% al 90%, del 65% al 90%, del 70% al 90%, del 75% al 95%, del 80% al 95% o del 85% al 99% idéntica a una secuencia de ácido nucleico que codifica para un polipéptido de B7-H7 de mamífero nativo; (c) un polipéptido que contiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más o de 2 a 5, de 2 a 10, de 5 a 10, de 5 a 15, de 5 a 20, de 10 a 15 o de 15 a 20 mutaciones de aminoácido (es decir, adiciones, deleciones y/o sustituciones) en relación con un polipéptido de B7-H7 de mamífero nativo; (d) un polipéptido codificado por ácidos nucleicos que puede hibridarse en condiciones de hibridación de rigurosidad alta, moderada o típica con ácidos nucleicos que codifican para un polipéptido de B7-H7 de mamífero nativo; (e) un polipéptido codificado por una secuencia de ácido nucleico que puede hibridarse en condiciones de hibridación de rigurosidad alta, moderada o típica con una secuencia de ácido nucleico que codifica para un fragmento de un polipéptido de B7-H7 de mamífero nativo de al menos 20 aminoácidos contiguos, al menos 30 aminoácidos contiguos, al menos 40 aminoácidos contiguos, al menos 50 aminoácidos contiguos, al menos 75 aminoácidos contiguos, al menos 100 aminoácidos contiguos, al menos 125 aminoácidos contiguos o al menos 150 aminoácidos contiguos, o de 20 a 50, de 25 a 75, de 25 a 100, de 25 a 150, de 50 a 75, de 50 a 100, de 75 a 100, de 50 a 150, de 75 al 150, de 100 a 150 o de 100 a 200 aminoácidos contiguos; o (f) un fragmento de un polipéptido de B7-H7 de mamífero nativo. Los derivados de B7-H7 también incluyen un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de una forma madura que se produce de manera natural de un polipéptido de B7-H7 de mamífero y una secuencia de aminoácidos de péptido señal heterólogo.

35 En una realización, un derivado de B7-H7 es un derivado de un polipéptido de B7-H7 humano nativo. En otra realización, un derivado de B7-H7 es un derivado de una forma inmadura o precursora de un polipéptido de B7-H7 humano que se produce de manera natural. En otra realización, un derivado de B7-H7 es un derivado de una forma madura de polipéptido de B7-H7 humano que se produce de manera natural. En una realización específica, un derivado de B7-H7 se aísla o se purifica.

40 En otra realización, un derivado de B7-H7 comprende (o consiste en) la secuencia de aminoácidos de B7-H7 nativo con 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más, o en el intervalo de 1 a 5, de 1 a 10, de 2 a 15, de 5 a 20, de 5 a 30, de 10 a 50, de 25 a 75 mutaciones (por ejemplo, sustituciones, inserciones y/o deleciones de aminoácido). En determinadas realizaciones, un derivado de B7-H7 comprende una o más mutaciones que aumentan la afinidad de B7-H7 por uno o más de sus receptores, por ejemplo, B7-H7CR (en particular, B7-H7CR nativo). En otras realizaciones, un derivado de B7-H7 comprende una o más mutaciones que disminuyen la afinidad de B7-H7 por uno o más de sus receptores, por ejemplo, B7-H7CR (en particular, B7-H7CR nativo). En algunas realizaciones, un derivado de B7-H7 comprende una o más mutaciones en uno más de los dominios de tipo V de tipo Ig y/o dominios de tipo C-1 de tipo Ig de B7-H7 nativo y tales mutaciones cambian (por ejemplo, aumentan) la afinidad de B7-H7 por B7-H7CR. En algunas realizaciones, un derivado de B7-H7 comprende una o más mutaciones en uno o más de los siguientes residuos de aminoácido de B7-H7 nativo: 141-144, 156, 158, 160, 162, 193-196, 198, 200, 201, 224 y/o 225. En determinadas realizaciones, un derivado de B7-H7 comprende una o más mutaciones en uno o más de los siguientes residuos de aminoácido que se predice que son sitios de glicosilación con unión a N: 90, 103 y/o 127. Pueden introducirse mutaciones en posiciones específicas con B7-H7 nativo usando, por ejemplo, técnicas de mutagénesis dirigida al sitio y/o técnicas de mutagénesis mediada por PCR. También pueden introducirse mutaciones aleatoriamente a lo largo de toda o parte de la secuencia codificante usando, por ejemplo, técnicas de mutagénesis de saturación. En realizaciones específicas, las mutaciones son sustituciones de aminoácido conservativas.

60 En otra realización, un derivado de B7-H7 comprende (o consiste en) la secuencia de aminoácidos de B7-H7 nativo con 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más, o en el intervalo de 1 a 5, de 1 a 10, de 2 a 15, de 5 a 20, de 5 a 30, de 10 a 50 o de 25 a 75 sustituciones de aminoácido. Tales sustituciones de aminoácido pueden ser o bien conservativas, no conservativas, o bien una combinación de ambas. En una realización específica, las sustituciones de aminoácido son sustituciones de aminoácido conservativas, y en determinadas realizaciones, se introducen en uno o más residuos de aminoácido no esenciales predichos. Una sustitución de aminoácido conservativa es una en la que el residuo de aminoácido se reemplaza por un residuo de aminoácido que

tiene una cadena lateral con una carga similar. Las familias de residuos de aminoácido que tienen cadenas laterales con cargas similares se han definido en la técnica. Estas familias incluyen aminoácidos con cadenas laterales básicas (por ejemplo, lisina, arginina, histidina), cadenas laterales ácidas (por ejemplo, ácido aspártico, ácido glutámico), cadenas laterales polares no cargadas (por ejemplo, glicina, asparagina, glutamina, serina, treonina, 5 tirosina, cisteína), cadenas laterales apolares (por ejemplo, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptófano), cadenas laterales con ramificación beta (por ejemplo, treonina, valina, isoleucina) y cadenas laterales aromáticas (por ejemplo, tirosina, fenilalanina, triptófano, histidina).

En otra realización, un derivado de B7-H7 comprende (o consiste en) una o más mutaciones en el dominio 2 de tipo V de tipo Ig. En otra realización, un derivado de B7-H7 comprende (o consiste en) la secuencia de aminoácidos de B7-H7 nativo con 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más, o en el intervalo de 1 a 5, de 1 a 10, de 2 a 15, de 5 a 20, de 5 a 30, de 10 a 50 o de 25 a 75 sustituciones de aminoácido en el dominio 2 de tipo V de tipo Ig. En otra realización, un derivado de B7-H7 comprende (o consiste en) una o más mutaciones en el dominio 1 de tipo C de tipo Ig. En otra realización, un derivado de B7-H7 comprende (o consiste en) la secuencia de aminoácidos de B7-H7 nativo con 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más, o en el intervalo de 1 a 5, de 1 a 10, de 2 a 15, de 5 a 20, de 5 a 30, de 10 a 50 o de 25 a 75 sustituciones de aminoácido en el dominio 1 de tipo C de tipo Ig.

En otra realización, un derivado de B7-H7 comprende un fragmento de B7-H7 nativo. En determinadas realizaciones, un derivado de B7-H7 comprende (o consiste en) los residuos de aminoácido 23 a 280, 23 a 275, 23 a 250, 23 a 225, 23 a 200, 23 a 175, 23 a 150, 23 a 125, 23 a 100, 23 a 95, 23 a 75, 23 a 70, 23 a 65, 23 a 60, 23 a 50, 15 a 30 ó 5 a 25 de B7-H7 nativo de la secuencia encontrada en el n.º de registro O9UM44-1 (UniParc).

En una realización, un derivado de B7-H7 es una forma soluble de B7-H7. En una realización específica, un derivado de B7-H7 comprende (o consiste en) el dominio extracelular de B7-H7 nativo, o el dominio extracelular de B7-H7 nativo que contiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 20 o más sustituciones, deleciones, y/o adiciones de aminoácido. En una realización específica, un derivado de B7-H7 comprende (o consiste en) los residuos de aminoácido 23 a 344 de la secuencia encontrada en el n.º de registro O9UM44-1 (UniParc). En otra realización, un derivado de B7-H7 comprende (o consiste en) un fragmento del dominio extracelular de B7-H7 nativo, o un fragmento del dominio extracelular de B7-H7 nativo que contiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 20 o más mutaciones (por ejemplo, sustituciones, deleciones y/o adiciones de aminoácido). En realizaciones específicas, un derivado de B7-H7 comprende (o consiste en) al menos 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300 ó 325 aminoácidos del dominio extracelular de B7-H7 nativo. En determinadas realizaciones, un derivado de B7-H7 comprende (o consiste en) los residuos de aminoácido 23 a 340, 23 a 325, 23 a 300, 23 a 275, 23 a 250, 23 a 225, 23 a 200, 23 a 175, 23 a 150, 23 a 125, 23 a 100, 23 a 75 ó 23 a 50 de B7-H7 nativo. En realizaciones específicas, un derivado de B7-H7 comprende (o consiste en) los residuos de aminoácido 23 a 375, 23 a 350, de 23 a 340, 23 a 325, 23 a 300, 23 a 275, 23 a 250, 23 a 225, 23 a 200, 23 a 175, 23 a 150, 23 a 125, 23 a 100, 23 a 75, 23 a 50, 15 a 30 ó 5 a 25 de la secuencia encontrada en el n.º de registro O9UM44-1 (UniParc).

En otra realización, un derivado de B7-H7 comprende (o consiste en) el dominio 1 de tipo V de tipo Ig de B7-H7 nativo. En una realización específica, un derivado de B7-H7 comprende (o consiste en) los residuos de aminoácido 61 a 131 ó 61 a 122 de la secuencia encontrada en el n.º de registro O9UM44-1 (UniParc). En otra realización, un derivado de B7-H7 comprende (o consiste en) el dominio de tipo C-1 de tipo Ig de B7-H7 nativo. En una realización específica, un derivado de B7-H7 comprende (o consiste en) los residuos de aminoácido 138 a 222 ó 140 a 225 de la secuencia encontrada en el n.º de registro O9UM44-1 (UniParc). En otra realización, un derivado de B7-H7 comprende (o consiste en) el dominio 2 de tipo V de tipo Ig de B7-H7 nativo. En una realización específica, un derivado de B7-H7 comprende (o consiste en) los residuos de aminoácido 235 a 328 ó 239 a 317 de la secuencia encontrada en el n.º de registro O9UM44-1 (UniParc). En una realización específica, un derivado de B7-H7 comprende (o consiste en) los residuos de aminoácido 140 a 222 de B7-H7 nativo.

En otra realización, un derivado de B7-H7 comprende (o consiste en) los dominios de tipo C-1 de tipo Ig y 1 de tipo V de tipo Ig de B7-H7 nativo. En una realización específica, un derivado de B7-H7 comprende (o consiste en) los residuos de aminoácido 61 a 222 ó 61 a 225 de la secuencia encontrada en el n.º de registro O9UM44-1 (UniParc). En otra realización, un derivado de B7-H7 comprende (o consiste en) los dominios de tipo C-1 de tipo Ig y 2 de tipo V de tipo Ig del dominio extracelular de B7-H7 nativo. En una realización específica, un derivado de B7-H7 comprende (o consiste en) los residuos de aminoácido 138 a 328 ó 140 a 317 de la secuencia encontrada en el n.º de registro O9UM44-1 (UniParc). En otra realización, un derivado de B7-H7 comprende (o consiste en) el dominio 1 de tipo V tipo Ig y el dominio 2 de tipo V tipo Ig del dominio extracelular de B7-H7 nativo. En otra realización, un derivado de B7-H7 comprende (o consiste en) los dominios 1 de tipo V tipo Ig, tipo C-1 de tipo Ig y 2 tipo V tipo Ig del dominio extracelular de B7-H7 nativo. En una realización específica, un derivado de B7-H7 comprende (o consiste en) los residuos de aminoácido 61 a 317 ó 61 a 328 de la secuencia encontrada en el n.º de registro O9UM44-1 (UniParc).

En determinadas realizaciones, un derivado de B7-H7 comprende una sustitución de aminoácido en una, dos o más de las siguientes posiciones: 159, 210, 243 ó 317 de B7-H7 nativo (por ejemplo, B7-H7 humano nativo).

En otra realización, un derivado de B7-H7 comprende (o consiste en) los dominios extracelulares y citoplasmáticos

de B7-H7 nativo o fragmentos del mismo. En otra realización, un derivado de B7-H7 comprende (o consiste en) los dominios extracelulares y citoplasmáticos de B7-H7 nativo o fragmentos del mismo que contienen 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 20 o más o de 5 a 15, de 5 a 20, de 2 a 10 ó de 2 a 5 sustituciones, deleciones y/o adiciones de aminoácido. En otra realización, un derivado de B7-H7 comprende (o consiste en) un fragmento del dominio extracelular de B7-H7 nativo y el dominio citoplasmático de B7-H7 nativo o un fragmento del mismo. En otra realización, un derivado de B7-H7 comprende (o consiste en) el dominio extracelular de B7-H7 nativo y un fragmento del dominio citoplasmático de B7-H7 nativo. En otra realización, un derivado de B7-H7 carece del dominio transmembrana de B7-H7 nativo o un fragmento del mismo. En determinadas realizaciones, un derivado de B7-H7 comprende un dominio transmembrana heterólogo en lugar del dominio transmembrana de B7-H7 nativo. En otra realización, un derivado de B7-H7 comprende (o consiste en) el dominio extracelular de B7-H7 nativo o un fragmento del mismo y el dominio transmembrana de B7-H7 nativo o un fragmento del mismo.

La actividad biológica de derivados de B7-H7 puede evaluarse usando técnicas conocidas por los expertos en la técnica, o descritas en el presente documento. Por ejemplo, la capacidad de un derivado de B7-H7 para unirse a uno o más receptores puede evaluarse usando técnicas descritas en el presente documento, o conocidas por los expertos en la técnica. Más específicamente, puede evaluarse la capacidad de un derivado de B7-H7 para unirse a B7-H7CR. Además, la capacidad de un derivado de B7-H7 para unirse a uno o más receptores e inducir una o más de las rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 nativo al uno o más receptores puede evaluarse usando técnicas descritas en el presente documento, o conocidas por los expertos en la técnica. Más específicamente, puede evaluarse la capacidad de un derivado de B7-H7 para unirse a B7-H7CR e inducir una o más de las rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 nativo a B7-H7CR nativo.

En determinadas realizaciones, un derivado de B7-H7 conserva al menos el 25%, el 30%, el 35%, el 40%, el 45%, el 50%, el 55%, el 60%, el 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 25% y el 98%, el 50% y el 75% o el 75% y el 100% de la función de un polipéptido de B7-H7 nativo para unirse a un receptor nativo de B7-H7 (por ejemplo, B7-H7CR), tal como se mide mediante ensayos/técnicas bien conocidos en la técnica, por ejemplo, ELISA, Biacore o inmunoprecipitación conjunta. En una realización específica, un derivado de B7-H7 conserva al menos el 25%, el 30%, el 35%, el 40%, el 45%, el 50%, el 55%, el 60%, el 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 25% y el 98%, el 50% y el 75% o el 75% y el 100% de la función de un polipéptido de B7-H7 nativo para unirse a B7-H7CR.

En determinadas realizaciones, un derivado de B7-H7 se une a un receptor nativo de B7-H7 (por ejemplo, B7-H7CR) con una afinidad mayor que con la que el B7-H7 nativo se une al mismo receptor, tal como se mide mediante ensayos/técnicas bien conocidos en la técnica, por ejemplo, ELISA, ensayos basados en células incluyendo citometría de flujo, ensayo KinEx A, ensayo de resonancia de plasmón superficial (por ejemplo, ensayo Biacore®) o inmunoprecipitación conjunta. En una realización, un derivado de B7-H7 se une a un receptor nativo de B7-H7 (por ejemplo, B7-H7CR) con un 50%, un 75%, un 80%, un 85%, un 90%, un 95% o un 98%, o del 25% al 50%, del 25% al 75%, del 50% al 95% o del 75% al 95% más de afinidad que con la que el B7-H7 nativo se une al mismo receptor tal como se mide mediante ensayos/técnicas bien conocidos. En una realización específica, un derivado de B7-H7 se une a un receptor nativo de B7-H7 (por ejemplo, B7-H7CR) con 0,5 log, 1 log, 1,5 log, 2 log, 2,5 log o 3 log más de afinidad que con la que el B7-H7 nativo se une al mismo receptor, tal como se mide mediante ensayos/técnicas bien conocidos en la técnica, por ejemplo, ELISA, Biacore o inmunoprecipitación conjunta.

En algunas realizaciones, un derivado de B7-H7 se une a un receptor nativo de B7-H7 (por ejemplo, B7-H7CR) con una afinidad menor que con la que el B7-H7 nativo se une al mismo receptor, tal como se mide mediante ensayos/técnicas bien conocidos en la técnica. En una realización, un derivado de B7-H7 se une a un receptor nativo de B7-H7 (por ejemplo, B7-H7CR) con un 50%, un 75%, un 80%, un 85%, un 90%, un 95%, o un 98%, o del 25% al 50%, del 25% al 75%, del 50% al 95% o del 75% al 95% menos de afinidad que con la que el B7-H7 nativo se une al mismo receptor tal como se mide mediante ensayos/técnicas bien conocidos en la técnica. En otra realización, un derivado de B7-H7 se une a un receptor nativo de B7-H7 (por ejemplo, B7-H7CR) con 0,5 log, 1 log, 1,5 log, 2 log, 2,5 log o 3 log menos afinidad que con la que el B7-H7 nativo se une al mismo receptor, tal como se mide mediante ensayos/técnicas bien conocidos en la técnica.

En otras realizaciones determinadas, un derivado de B7-H7 conserva menos del 20%, el 15%, el 10%, el 5% o el 2%, o en el intervalo de entre el 2% y el 20%, el 2% y el 15%, el 2% y el 10% o el 2% y el 5% de la función de un polipéptido de B7-H7 nativo para unirse a un receptor nativo de B7-H7 (por ejemplo, B7-H7CR), tal como se mide mediante ensayos/técnicas bien conocidos en la técnica, por ejemplo, ELISA, ensayos basados en células incluyendo citometría de flujo, ensayo KinEx A, ensayo de resonancia de plasmón superficial (por ejemplo, ensayo Biacore®) o inmunoprecipitación conjunta. En una realización específica, un derivado de B7-H7 conserva menos del 20%, el 15%, el 10%, el 5% o el 2%, o en el intervalo de entre el 2% y el 20%, el 2% y el 15%, el 2% y el 10% o el 2% y el 5% de la función de un polipéptido de B7-H7 nativo para unirse a B7-H7CR.

En algunas realizaciones, un derivado de B7-H7 conserva al menos el 25%, el 30%, el 35%, el 40%, el 45%, el 50%, el 55%, el 60%, el 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 25% y el 98%, el 50% y el 75% o el 75% y el 100% de la capacidad para

activar o inducir una o más de las rutas de transducción de señales inducidas cuando un polipéptido de B7-H7 nativo se une a un receptor nativo de B7-H7 (por ejemplo, B7-H7CR), tal como se mide mediante ensayos bien conocidos en la técnica. La una o más rutas de transducción de señales inducidas por la unión de un receptor nativo de B7-H7 (por ejemplo, B7-H7CR) a un polipéptido de B7-H7 pueden medirse, por ejemplo, evaluando la activación de un resto de transducción de señales (por ejemplo, activación de Jun cinasa, activación de MAP cinasa, activación de PKC), la translocación de un factor de transcripción (por ejemplo, NF-kappa B o Stat1) y la producción de citocinas (por ejemplo, IL-2, IL-4, IL-5, ILK-10, IL-17, interferón-gamma o factor de necrosis tumoral alfa) usando técnicas tales como ELISA, inmunotransferencias de tipo Western, ensayos de desplazamiento de electromovilidad y otros inmunoensayos. En una realización específica, un derivado de B7-H7 conserva al menos el 25%, el 30%, el 35%, el 40%, el 45%, el 50%, el 55%, el 60%, el 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 25% y el 98%, el 50% y el 75% o el 75% y el 100% de la capacidad para activar o inducir una o más de las rutas de transducción de señales inducidas por la unión de un polipéptido de B7-H7 nativo a B7-H7CR.

En determinadas realizaciones, un derivado de B7-H7 se une a su receptor nativo (por ejemplo, B7-H7CR nativo) e induce un nivel mayor de actividad que la unión de B7-H7 nativo al receptor nativo tal como se evalúa mediante, por ejemplo, la inducción de una o más moléculas de transducción de señales. En realizaciones específicas, un derivado de B7-H7 se une a B7-H7CR nativo e induce un nivel mayor de actividad que la unión de B7-H7 nativo a B7-H7CR nativo tal como se evalúa mediante, por ejemplo, la activación o inducción de una o más moléculas de transducción de señales. En algunas realizaciones, un derivado de B7-H7 se une a B7-H7CR nativo e induce al menos el 25%, el 30%, el 35%, el 40%, el 45%, el 50%, el 55%, el 60%, el 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 25% y el 98%, el 50% y el 75%, el 50% y el 98% o el 75% y el 100% de más de nivel de actividad que la unión de B7-H7 nativo a B7-H7CR nativo tal como se evalúa mediante, por ejemplo, la activación o inducción de una o más moléculas de transducción de señales.

En algunas otras realizaciones, un derivado de B7-H7 conserva menos del 20%, el 15%, el 10%, el 5% o el 2%, o en el intervalo de entre el 2% y el 20%, el 2% y el 15%, el 2% y el 10% o el 2% y el 5% de la capacidad para activar o inducir una o más de las rutas de transducción de señales inducidas cuando un polipéptido de B7-H7 nativo se une a un receptor de B7-H7 (por ejemplo, B7-H7CR), tal como se mide mediante ensayos bien conocidos en la técnica. En una realización específica, un derivado de B7-H7 conserva menos del 20%, el 15%, el 10%, el 5% o el 2%, o en el intervalo de entre el 2% y el 20%, el 2% y el 15%, el 2% y el 10% o el 2% y el 5% de la capacidad para activar o inducir una o más de las rutas de transducción de señales inducidas por la unión de un polipéptido de B7-H7 nativo a B7-H7CR.

#### 5.2.2.2 Polipéptidos y derivados de B7-H7CR

En un aspecto, un agente terapéutico es un polipéptido de B7-H7CR. En una realización, un agente terapéutico es un polipéptido de B7-H7CR que modula una o más de las rutas de transducción de señales mediadas por B7-H7. En una realización la proteína de B7-H7CR se une a y agoniza la transducción de señales a través del B7-H7. En otra realización la proteína de B7-H7CR se une a B7-H7 y bloquea la unión a B7-H7CR. En una realización específica, un agente terapéutico es un polipéptido de B7-H7CR que modula una o más de las rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a B7-H7CR. En otra realización específica, un agente terapéutico es un polipéptido de B7-H7CR que modula la interacción del polipéptido de B7-H7 y el polipéptido de B7-H7CR.

En otro aspecto, un agente terapéutico es un derivado de B7-H7CR. En una realización, un agente terapéutico es un derivado de B7-H7CR que modula una o más de las rutas de transducción de señales mediadas por B7-H7. En una realización específica, un agente terapéutico es un derivado de B7-H7CR que modula una o más de las rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a B7-H7CR. En otra realización, un agente terapéutico de este tipo modula la interacción del polipéptido de B7-H7 y el polipéptido de B7-H7CR. En determinadas realizaciones, el derivado de B7-H7 es un agente terapéutico inmunoestimulante. En otras realizaciones, el derivado de B7-H7 es un agente terapéutico inhibidor.

En realizaciones específicas, un derivado de B7-H7CR es: (a) un polipéptido que es al menos el 40%, el 45%, el 50%, el 55%, el 60%, el 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o es del 40% al 65%, del 50% al 90%, del 65% al 90%, del 70% al 90%, del 75% al 95%, del 80% al 95% o del 85% al 99% idéntico a un polipéptido de B7-H7CR nativo; (b) un polipéptido codificado por una secuencia de ácido nucleico que es al menos el 40%, el 45%, el 50%, el 55%, el 60%, el 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o es del 40% al 65%, del 50% al 90%, del 65% al 90%, del 70% al 90%, del 75% al 95%, del 80% al 95% o del 85% al 99% idéntica a una secuencia de ácido nucleico que codifica para un polipéptido de B7-H7CR nativo; (c) un polipéptido que contiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más, o de 2 a 5, de 2 a 10, de 5 a 10, de 5 a 15, de 5 a 20, de 10 a 15 o de 15 a 20 mutaciones de aminoácido (es decir, adiciones, deleciones y/o sustituciones) en relación con un polipéptido de B7-H7CR nativo; (d) un polipéptido codificado por ácidos nucleicos puede hibridarse en condiciones de hibridación de rigurosidad alta, moderada o típica con ácidos nucleicos que codifican para un polipéptido de B7-H7CR nativo; (e) un polipéptido codificado por una secuencia de ácido nucleico que puede hibridarse en condiciones de hibridación de rigurosidad alta, moderada o típica con una

- secuencia de ácido nucleico que codifica para un fragmento de un polipéptido de B7-H7CR nativo de al menos 20 aminoácidos contiguos, al menos 30 aminoácidos contiguos, al menos 40 aminoácidos contiguos, al menos 50 aminoácidos contiguos, al menos 75 aminoácidos contiguos, al menos 100 aminoácidos contiguos, al menos 125 aminoácidos contiguos o al menos 150 aminoácidos contiguos o de 20 a 50, de 25 a 75, de 25 a 100, de 25 a 150, de 50 a 75, de 50 a 100, de 75 a 100, de 50 a 150, de 75 a 150, de 100 a 150 o de 100 a 200 aminoácidos contiguos; o (f) un fragmento de un polipéptido de B7-H7CR nativo. Los derivados de B7-H7CR también incluyen un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de una forma madura que se produce de manera natural de un polipéptido de B7-H7CR de mamífero y una secuencia de aminoácidos de péptido señal heterólogo. En una realización específica, un derivado de B7-H7CR es un derivado de un polipéptido de B7-H7CR humano nativo. En otra realización, un derivado de B7-H7CR es un derivado de una forma inmadura o precursora de un polipéptido de B7-H7CR humano que se produce de manera natural. En otra realización, un derivado de B7-H7CR es un derivado de una forma madura de polipéptido de B7-H7CR humano que se produce de manera natural. En una realización, un derivado de B7-H7CR se aísla o se purifica.
- 15 En otra realización, un derivado de B7-H7CR comprende (o consiste en) la secuencia de aminoácidos de B7-H7CR nativo con 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más, o en el intervalo de 1 a 5, de 1 a 10, de 2 a 15, de 5 a 20, de 5 a 30, de 10 a 50, de 25 a 75 mutaciones (por ejemplo, sustituciones, inserciones y/o deleciones de aminoácido). En determinadas realizaciones, un derivado de B7-H7CR comprende una o más mutaciones que aumentan la afinidad de B7-H7CR por uno o más de sus ligandos, por ejemplo, B7-H7 (en particular, B7-H7 nativo). En otras realizaciones, un derivado de B7-H7CR comprende una o más mutaciones que disminuyen la afinidad de B7-H7CR por uno o más de sus ligandos, por ejemplo, B7-H7 (en particular, B7-H7 nativo). En realizaciones específicas, un derivado de B7-H7CR comprende una o más mutaciones en el dominio de tipo V de tipo Ig de B7-H7CR nativo y tales mutaciones aumentan la afinidad de B7-H7CR por B7-H7. Pueden introducirse mutaciones en posiciones específicas con B7-H7CR nativo usando, por ejemplo, técnicas de mutagénesis dirigida al sitio y/o técnicas de mutagénesis mediada por PCR. También pueden introducirse mutaciones aleatoriamente a lo largo de toda o parte de la secuencia codificante usando, por ejemplo, técnicas de mutagénesis de saturación.
- 30 En otra realización, un derivado de B7-H7CR comprende (o consiste en) la secuencia de aminoácidos de B7-H7CR nativo con 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más, o en el intervalo de 1 a 5, de 1 a 10, de 2 a 15, de 5 a 20, de 5 a 30, de 10 a 50 o de 25 a 75 sustituciones de aminoácido. Tales sustituciones de aminoácido pueden ser o bien conservativas, no conservativas, o bien una combinación de ambas. En una realización específica, las sustituciones de aminoácido son sustituciones de aminoácido conservativas, y en determinadas realizaciones, se introducen en uno o más residuos de aminoácido no esenciales predichos.
- 35 En otra realización, un derivado de B7-H7CR comprende un fragmento de B7-H7CR nativo. En determinadas realizaciones, un derivado de B7-H7CR comprende (o consiste en) los residuos de aminoácido 23 a 280, 23 a 275, 23 a 250, 23 a 225, 23 a 200, 23 a 175, 23 a 150, 23 a 125, 23 a 100, 23 a 95, 23 a 75, 23 a 70, 23 a 65, 23 a 60, 23 a 50, 15 a 30 ó 5 a 25 de B7-H7CR nativo de la secuencia encontrada en el n.º de registro Q96BF3-1 (UniParc). En determinadas realizaciones, un derivado de B7-H7CR tiene una o más mutaciones en los residuos de aminoácido 227-277. En algunas realizaciones, un derivado de B7-H7CR tiene una o más mutaciones en los sitios de glicosilación con unión a N (residuos de aminoácido 73, 105 y 127). En determinadas realizaciones, un derivado de B7-H7CR tiene una mutación (por ejemplo, una sustitución) en el residuo de serina 220.
- 45 En una realización, un derivado de B7-H7CR es una forma soluble de B7-H7CR. En una realización específica, un derivado de B7-H7CR comprende (o consiste en) el dominio extracelular de B7-H7CR nativo, o el dominio extracelular de B7-H7CR nativo que contiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 20 o más o de 2 a 5, de 5 a 10, de 5 a 15 o de 10 a 20 sustituciones, deleciones y/o adiciones de aminoácido. En una realización específica, un derivado de B7-H7CR comprende (o consiste en) los residuos de aminoácido 23 a 150 de la secuencia encontrada en el n.º de registro Q96BF3-1 (UniParc). En otra realización, un derivado de B7-H7CR comprende (o consiste en) un fragmento del dominio extracelular de B7-H7CR nativo, o un fragmento del dominio extracelular de B7-H7CR nativo que contiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 20 o más mutaciones (por ejemplo, sustituciones, deleciones y/o adiciones de aminoácido). En realizaciones específicas, un derivado de B7-H7CR comprende (o consiste en) al menos 25, 50, 75, 100 ó 125 aminoácidos del dominio extracelular de B7-H7CR nativo. En determinadas realizaciones, un derivado de B7-H7CR comprende (o consiste en) los residuos de aminoácido 23 a 145, 23 a 140, 23 a 130, 23 a 125, 23 a 100, 23 a 95, 23 a 75, 23 a 70, 23 a 65, 23 a 60 ó 23 a 50 de B7-H7CR nativo. En realizaciones específicas, un derivado de B7-H7CR comprende (o consiste en) 23 a 145, 23 a 140, 23 a 130, 23 a 125, 23 a 100, 23 a 95, 23 a 75, 23 a 70, 23 a 65, 23 a 60 ó 23 a 50 residuos de aminoácido de la secuencia encontrada en el n.º de registro Q96BF3-1 (UniParc). En otra realización, un derivado de B7-H7CR comprende (o consiste en) el dominio tipo Ig de B7-H7CR nativo. En una realización específica, un derivado de B7-H7CR comprende (o consiste en) los residuos de aminoácido 23 a 129 de la secuencia encontrada en el n.º de registro Q96BF3-1 (UniParc). En otra realización, un derivado de B7-H7CR comprende (o consiste en) los residuos de aminoácido 23 a 129, 23 a 150 o 129 a 150 de la secuencia Q96BF3-1.
- 60 En determinadas realizaciones, un derivado de B7-H7CR comprende una sustitución de aminoácido en una, dos o más de las siguientes posiciones: 44, 67, 81, 112, 192, 197 ó 222 de B7-H7CR nativo (por ejemplo, B7-H7 humano
- 65

nativo).

En otra realización, un derivado de B7-H7CR comprende (o consiste en) los dominios extracelulares y citoplasmáticos de B7-H7CR nativo o fragmentos del mismo. En otra realización, un derivado de B7-H7CR comprende (o consiste en) los dominios extracelulares y citoplasmáticos de B7-H7CR nativo o fragmentos del mismo que contiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 20 o más, o de 2 a 5, de 5 a 10, de 5 a 15, de 5 a 20 o de 10 a 20 sustituciones, deleciones y/o adiciones de aminoácido. En otra realización, un derivado de B7-H7CR comprende (o consiste en) un fragmento del dominio extracelular de B7-H7CR nativo y el dominio citoplasmático de B7-H7CR nativo o un fragmento del mismo. En otra realización, un derivado de B7-H7CR comprende (o consiste en) el dominio extracelular de B7-H7CR nativo y un fragmento del dominio citoplasmático de B7-H7CR nativo. En otra realización, un derivado de B7-H7CR carece del dominio transmembrana de B7-H7CR nativo o un fragmento del mismo. En determinadas realizaciones, un derivado de B7-H7CR comprende un dominio transmembrana heterólogo en lugar del dominio transmembrana de B7-H7CR nativo. En otra realización, un derivado de B7-H7CR comprende (o consiste en) el dominio extracelular de B7-H7CR nativo o un fragmento del mismo y el dominio transmembrana de B7-H7CR nativo o un fragmento del mismo.

La actividad biológica de derivados de B7-H7CR puede evaluarse usando técnicas conocidas por los expertos en la técnica, o descritas en el presente documento. Por ejemplo, puede evaluarse la capacidad de un derivado de B7-H7CR para unirse a uno o más ligandos usando técnicas descritas en el presente documento, o conocidas por los expertos en la técnica. Más específicamente, puede evaluarse la capacidad de un derivado de B7-H7CR para unirse a B7-H7. Además, puede evaluarse la capacidad de un derivado de B7-H7CR para unirse a uno o más ligandos e inducir una o más de las rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7CR nativo al uno o más ligandos usando técnicas descritas en el presente documento, o conocidas por los expertos en la técnica. Más específicamente, puede evaluarse la capacidad de un derivado de B7-H7CR para unirse a B7-H7 e inducir una o más de las rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 nativo a B7-H7CR nativo.

En determinadas realizaciones, un derivado de B7-H7CR conserva al menos el 25%, el 30%, el 35%, el 40%, el 45%, el 50%, el 55%, el 60%, el 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 25% y el 98%, el 50% y el 75% o el 75% y el 100% de la función de un polipéptido de B7-H7CR nativo para unirse a un ligando nativo de B7-H7CR (por ejemplo, B7-H7), tal como se mide mediante ensayos/técnicas bien conocidos en la técnica, por ejemplo, ELISA, Biacore o inmunoprecipitación conjunta. En una realización específica, un derivado de B7-H7CR conserva al menos el 25%, el 30%, el 35%, el 40%, el 45%, el 50%, el 55%, el 60%, el 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 25% y el 98%, el 50% y el 75% o el 75% y el 100% de la función de un polipéptido de B7-H7CR nativo para unirse a B7-H7.

En determinadas realizaciones, un derivado de B7-H7CR se une a un ligando nativo de B7-H7CR (por ejemplo, B7-H7) con una afinidad mayor que con la que B7-H7CR nativo se une al mismo ligando, tal como se mide mediante ensayos/técnicas bien conocidos en la técnica, por ejemplo, ELISA, Biacore o inmunoprecipitación conjunta. En una realización, un derivado de B7-H7CR se une a un ligando nativo de B7-H7CR (por ejemplo, B7-H7) con un 25%, un 50%, un 75%, un 80%, un 85%, un 90%, un 95%, o del 25% al 50%, del 25% al 75%, del 50% al 95% o del 75% al 95% de más afinidad que con la que el B7-H7CR nativo se une al mismo ligando, tal como se mide mediante ensayos/técnicas conocidos. En una realización específica, un derivado de B7-H7CR se une a un ligando nativo de B7-H7CR (por ejemplo, B7-H7) con una 0,5 log, 1 log, 1,5 log, 2 log, 2,5 log o 3 log más afinidad que con la que el B7-H7CR nativo se une al mismo ligando, tal como se mide mediante ensayos/técnicas bien conocidos en la técnica, por ejemplo, ELISA, Biacore o inmunoprecipitación conjunta.

En determinadas realizaciones, un derivado de B7-H7CR se une a un ligando nativo de B7-H7CR con una afinidad menor que con la que el B7-H7CR nativo se une al mismo ligando, tal como se mide mediante ensayos/técnicas bien conocidos. En una realización, un derivado de B7-H7CR se une a un ligando nativo de B7-H7CR con el 25%, el 50%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, del 25% al 50%, del 25% al 75%, del 50% al 75%, del 50% al 95% o del 75% al 95% de menos afinidad que con la que el B7-H7CR nativo se une al mismo ligando, tal como se mide mediante ensayos/técnicas bien conocidos. En otra realización, un derivado de B7-H7CR se une a un ligando nativo de B7-H7CR con una 0,5 log, 1 log, 1,5 log, 2 log, 2,5 log o 3 menos afinidad que con la que el B7-H7CR nativo se une al mismo ligando, tal como se mide mediante ensayos/técnicas bien conocidos.

En otras realizaciones determinadas, un derivado de B7-H7CR conserva menos del 20%, el 15%, el 10%, el 5% o el 2%, o en el intervalo de entre el 2% y el 20%, el 2% y el 15%, el 2% y el 10% o el 2% y el 5% de la función de un polipéptido de B7-H7CR nativo para unirse a un ligando nativo de B7-H7CR (por ejemplo, B7-H7), tal como se mide mediante ensayos/técnicas bien conocidos en la técnica, por ejemplo, ELISA, Biacore o inmunoprecipitación conjunta. En una realización específica, un derivado de B7-H7CR conserva menos del 20%, el 15%, el 10%, el 5% o el 2%, o en el intervalo de entre el 2% y el 20%, el 2% y el 15%, el 2% y el 10% o el 2% y el 5% de la función de un polipéptido de B7-H7CR nativo para unirse a B7-H7.

En algunas realizaciones, un derivado de B7-H7CR conserva al menos el 25%, el 30%, el 35%, el 40%, el 45%, el 50%, el 55%, el 60%, el 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de

entre el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 25% y el 98%, el 50% y el 75% o el 75% y el 100% de la capacidad para activar o inducir una o más de las rutas de transducción de señales inducidas cuando un ligando nativo de B7-H7CR (por ejemplo, B7-H7) se une a un polipéptido de B7-H7CR nativo (por ejemplo, un polipéptido de B7-H7CR de mamífero nativo), tal como se mide mediante ensayos bien conocidos en la técnica. La una o más rutas de transducción de señales inducidas por la unión de un ligando nativo de B7-H7CR a un polipéptido de B7-H7CR pueden medirse, por ejemplo, evaluando la activación de un resto de transducción de señales (por ejemplo, activación de Jun cinasa, activación de MAP cinasa, activación de PKC), la translocación de un factor de transcripción (por ejemplo, NF-kappa B o Stat1) y la producción de citocinas (por ejemplo, IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-17, interferón-gamma o factor de necrosis tumoral alfa) usando técnicas tales como ELISA, inmunotransferencias de tipo Western, ensayos de desplazamiento de electromovilidad y otros inmunoensayos. En una realización específica, un derivado de B7-H7CR conserva al menos el 25%, el 30%, el 35%, el 40%, el 45%, el 50%, el 55%, el 60%, el 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 25% y el 98%, el 50% y el 75% o el 75% y el 100% de la capacidad para activar o inducir una o más de las rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a un polipéptido de B7-H7CR nativo.

En determinadas realizaciones, un derivado de B7-H7CR se une a su ligando nativo (por ejemplo, B7-H7 nativo) e induce un nivel mayor de actividad que la unión de B7-H7CR nativo al ligando nativo tal como se evalúa mediante, por ejemplo, la inducción de una o más moléculas de transducción de señales. En realizaciones específicas, un derivado de B7-H7CR se une a B7-H7 nativo e induce un nivel mayor de actividad que la unión de B7-H7CR nativo a B7-H7 nativo tal como se evalúa mediante, por ejemplo, la inducción de una o más moléculas de transducción de señales. En algunas realizaciones, un derivado de B7-H7CR se une a B7-H7 e induce al menos el 25%, el 30%, el 35%, el 40%, el 45%, el 50%, el 55%, el 60%, el 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 25% y el 98%, el 50% y el 75%, el 50% y el 98% o el 75% y el 90% de más nivel de actividad que la unión de B7-H7CR nativo a B7-H7 nativo tal como se evalúa mediante, por ejemplo, la inducción de una o más moléculas de transducción de señales.

En algunas otras realizaciones, un derivado de B7-H7CR conserva menos del 20%, el 15%, el 10%, el 5% o el 2%, o en el intervalo de entre el 2% y el 20%, el 2% y el 15%, el 2% y el 10% o el 2% y el 5% de la capacidad para activar o inducir una o más de las rutas de transducción de señales inducidas cuando un ligando nativo (por ejemplo, B7-H7) se une a un polipéptido de B7-H7CR nativo (por ejemplo, un polipéptido de B7-H7CR de mamífero nativo), tal como se mide mediante ensayos bien conocidos en la técnica. En una realización específica, un derivado de B7-H7CR conserva menos del 20%, el 15%, el 10%, el 5% o el 2%, o en el intervalo de entre el 2% y el 20%, el 2% y el 15%, el 2% y el 10% o el 2% y el 5% de la capacidad para activar o inducir una o más de las rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a un polipéptido de B7-H7CR nativo.

### 5.2.3 Proteínas de fusión

En un aspecto, un agente terapéutico es una proteína que comprende un polipéptido de B7-H7 y una molécula heteróloga (por ejemplo, una secuencia de aminoácidos heteróloga). En una realización, un agente terapéutico de este tipo modula una o más de las rutas de transducción de señales mediadas por B7-H7CR. En una realización el agente terapéutico se une a y agoniza la transducción de señales a través del receptor B7-H7CR. En otra realización el agente terapéutico se une a B7-H7CR y antagoniza la transducción de señales bloqueando la unión de un ligando nativo (por ejemplo, B7-H7). En una realización específica, un agente terapéutico de este tipo modula una o más de las rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a B7-H7CR. En otra realización específica, un agente terapéutico de este tipo modula la interacción del polipéptido de B7-H7 y el polipéptido de B7-H7CR. En una realización, un agente terapéutico comprende B7-H7 nativo y una molécula heteróloga. En otra realización, un agente terapéutico comprende un derivado de B7-H7 y una secuencia de aminoácidos heteróloga. Véase la sección 5.2.2.1, anteriormente, para derivados de B7-H7. En algunas realizaciones, tales agentes terapéuticos son agentes terapéuticos inmunoestimulantes. En otras realizaciones, tales agentes terapéuticos son agentes terapéuticos inhibidores.

En una realización específica, un agente terapéutico es una proteína de fusión que comprende un polipéptido de B7-H7 y una secuencia de aminoácidos heteróloga. En una realización, un agente terapéutico es una proteína de fusión que comprende un polipéptido de B7-H7 y una región constante de una inmunoglobulina o un fragmento de la misma (por ejemplo, CH1, CH2 y/o CH3). Pueden usarse regiones de Fc de, por ejemplo, IgG1, IgG2 o IgG4 nativa para producir una proteína de fusión de este tipo. Además, pueden usarse dominios Fc de IgG1/IgG4 híbridos para producir una proteína de fusión de este tipo como también dominios Fc de IgG1 modificada (por ejemplo, IgG1 modificada para mejorar la unión a determinados receptores de Fc gamma; IgG1 modificada para minimizar la función efectora; IgG1 con o sin glicano alterado; e IgG1 con unión a FcRn alterada dependiente del pH) y dominios Fc de IgG4 modificada (por ejemplo, IgG4 modificada para evitar la unión a receptores de Fc gamma y/o complemento). Se describen modificaciones del dominio Fc a modo de ejemplo en Mueller *et al.*, 1997, *Molecular Immunology* 34(6):441-452; Swann *et al.*, 2008, *Current Opinion in Immunology* 20:493-499; y Presta, 2008, *Current Opinion in Immunology* 20:460-470. En una realización específica, un agente terapéutico es la proteína de fusión B7-H7-Ig descrita en el ejemplo 6, más adelante. En algunas realizaciones, tales agentes terapéuticos son agentes terapéuticos inmunoestimulantes. En otras realizaciones, tales agentes terapéuticos son agentes terapéuticos inhibidores.

En determinadas realizaciones, un agente terapéutico es una proteína de fusión o un conjugado que comprende un polipéptido de B7-H7 y una molécula orgánica de interés. Según estas realizaciones, el polipéptido de B7-H7 puede usarse como resto de direccionamiento para dirigir la molécula orgánica con la que está fusionado o conjugado a órganos o tejidos particulares (por ejemplo, órganos o tejidos linfoides). Los ejemplos a continuación proporcionan información referente a los órganos y tejidos que expresan B7-H7. En realizaciones específicas, el polipéptido de B7-H7 comprende el dominio extracelular de B7-H7 nativo o un fragmento del mismo que conserva la capacidad para unirse a uno o más receptores de B7-H7 (por ejemplo, B7-H7CR). En determinadas realizaciones, el polipéptido de B7-H7 es un derivado de B7-H7 nativo. La molécula orgánica fusionada conjugada con el polipéptido de B7-H7 puede ser una molécula que un experto en la técnica está interesado en dirigir a un/unos órgano(s) o tejido(s) particular(es) (por ejemplo, órganos o tejidos linfoides) (por ejemplo, una citocina, fármaco, marcador, etc.).

En otro aspecto, un agente terapéutico es una proteína que comprende un polipéptido de B7-H7CR y una molécula heteróloga. En una realización, un agente terapéutico de este tipo modula una o más rutas de transducción de señales mediadas por B7-H7. En una realización el agente terapéutico se une a y agoniza la transducción de señales a través del B7-H7. En otra realización el agente terapéutico se une a B7-H7 nativo y bloquea la unión a B7-H7CR. En una realización específica, un agente terapéutico de este tipo modula la interacción de B7-H7 y B7-H7CR. En una realización, un agente terapéutico comprende B7-H7CR nativo y una molécula heteróloga. En otra realización, un agente terapéutico comprende un derivado de B7-H7CR y una secuencia de aminoácidos heteróloga. Véase la sección 5.2.2.2, anteriormente, para derivados de B7-H7CR. En algunas realizaciones, tales agentes terapéuticos son agentes terapéuticos inmunoestimulantes. En otras realizaciones, tales agentes terapéuticos son agentes terapéuticos inhibidores.

En una realización específica, un agente terapéutico es una proteína de fusión que comprende B7-H7CR y una molécula heteróloga. En una realización, un agente terapéutico es una proteína de fusión que comprende un polipéptido de B7-H7 y una región constante de una inmunoglobulina o un fragmento de la misma (por ejemplo, CH1, CH2 y/o CH3). Pueden usarse regiones de Fc de, por ejemplo, IgG1, IgG2 o IgG4 nativa para producir una proteína de fusión de este tipo. Además, pueden usarse dominios Fc de IgG1/IgG4 híbridos para producir una proteína de fusión de este tipo como también dominios Fc de IgG1 modificados (por ejemplo, IgG1 modificada para mejorar la unión a determinados receptores de Fc gamma; IgG1 modificada para minimizar la función efectora; IgG1 con o sin glicano alterado; e IgG1 con unión a FcRn alterada dependiente del pH) y dominios Fc de IgG4 modificada (por ejemplo, IgG4 modificada para evitar la unión a receptores de Fc gamma y/o complemento). Se describen modificaciones del dominio Fc a modo de ejemplo en Mueller *et al.*, 1997, *Molecular Immunology* 34(6):441-452; Swann *et al.*, 2008, *Current Opinion in Immunology* 20:493-499; y Presta, 2008, *Current Opinion in Immunology* 20:460-470. En una realización específica, un agente terapéutico es la proteína de fusión B7-H7CR descrita en el ejemplo 6, más adelante. En algunas realizaciones, tales agentes terapéuticos son agentes terapéuticos inmunoestimulantes. En otras realizaciones, tales agentes terapéuticos son agentes terapéuticos inhibidores.

En determinadas realizaciones, un agente terapéutico es una proteína de fusión o un conjugado que comprende un polipéptido de B7-H7CR y una molécula orgánica. Según estas realizaciones, el polipéptido de B7-H7CR puede usarse como resto de direccionamiento para dirigir la molécula orgánica con la que está fusionado o conjugado a órganos o tejidos particulares (por ejemplo, órganos o tejidos linfoides). Los ejemplos a continuación proporcionan información referente a órganos y tejidos que expresan B7-H7CR. En realizaciones específicas, el polipéptido de B7-H7CR comprende el dominio extracelular de B7-H7CR nativo o un fragmento del mismo que conserva la capacidad para unirse a uno o más ligandos de B7-H7CR (por ejemplo, B7-H7). En determinadas realizaciones, el polipéptido de B7-H7CR es un derivado de B7-H7CR nativo. La molécula orgánica fusionada conjugada con el polipéptido de B7-H7CR puede ser cualquier molécula que un experto en la técnica está interesado en dirigir a órganos o tejidos particulares (por ejemplo, testículos, colon, pulmón, riñón, páncreas, intestino delgado, hígado o músculo esquelético) (por ejemplo, una citocina, fármaco, marcador, etc.).

El polipéptido de B7-H7 o polipéptido de B7-H7CR puede unirse de manera covalente o no covalente a una molécula heteróloga. En determinadas realizaciones, el polipéptido de B7-H7 o el polipéptido de B7-H7CR se une de manera covalente o no covalente directamente a una molécula heteróloga (por ejemplo, combinando secuencias de aminoácidos mediante enlaces peptídicos). En otras realizaciones, el polipéptido de B7-H7 o el polipéptido de B7-H7CR se une a una molécula heteróloga usando uno o más ligadores. Los ligadores adecuados para conjugar el polipéptido de B7-H7 o el polipéptido de B7-H7CR con una molécula heteróloga comprenden péptidos, grupos alquilo, grupos alquilo químicamente sustituidos, polímeros o cualquier otra sustancia química unida de manera covalente o unida de manera no covalente que puede unir entre sí dos o más componentes. Los ligadores de polímero comprenden cualquier polímero conocido en la técnica, incluyendo polietilenglicol ("PEG"). En algunas realizaciones, el ligador es un péptido que tiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más aminoácidos de longitud. En una realización específica, el ligador es lo suficientemente largo como para conservar la capacidad del polipéptido de B7-H7 para unirse al polipéptido de B7-H7CR. En otras realizaciones, el ligador es lo suficientemente largo como para conservar la capacidad del polipéptido de B7-H7 para unirse al polipéptido de B7-H7CR e inducir una o más rutas de transducción de señales inducidas por la interacción entre el polipéptido de B7-H7 nativo y el polipéptido de B7-H7CR nativo. En realizaciones específicas, el ligador conserva la formación de enlaces disulfuro.

En algunas realizaciones, la molécula heteróloga es el dominio Fc de una inmunoglobulina IgG o un fragmento del mismo. En determinadas realizaciones, la molécula heteróloga es polietilenglicol (PEG). En algunas realizaciones, la molécula heteróloga es un resto terapéutico que presenta una actividad biológica deseada. En determinadas realizaciones, la molécula heteróloga es interferón- $\gamma$ , interferón- $\beta$ , interferón- $\alpha$ , interleucina-2 ("IL-2"), interleucina-7 ("IL-7"), interleucina 9 ("IL-9"), interleucina-10 ("IL-10"), interleucina-12 ("IL-12"), interleucina-15 ("IL-15"), interleucina-23 ("IL-23"), factor estimulante de colonias de macrófagos y granulocitos ("GM-CSF"), factor estimulante de colonias de granulocitos ("G-CSF") o un factor de crecimiento.

En algunas realizaciones, la molécula heteróloga aumenta la estabilidad de la proteína. Los ejemplos no limitativos de tales moléculas incluyen polietilenglicol (PEG), dominio Fc de una inmunoglobulina IgG, un fragmento del mismo o forma modificada del mismo, o albúmina que aumentan la semivida de B7-H7 o B7-H7CR *in vivo*. Véase, por ejemplo, la sección 5.1.1 para una descripción respecto a dominios Fc modificados. En determinadas realizaciones, las moléculas heterólogas no son un dominio Fc de una molécula de inmunoglobulina o un fragmento del mismo. En otras realizaciones, las moléculas heterólogas reducen la unión a receptores de Fc, por ejemplo, la molécula heteróloga es un dominio Fc de una inmunoglobulina o un fragmento del mismo con afinidad reducida por un receptor de Fc (por ejemplo, FcRn).

En algunas realizaciones, la molécula heteróloga es un resto detectable. Los ejemplos no limitativos de restos detectables incluyen diversas enzimas, tales como, pero sin limitarse a, peroxidasa del rábano, fosfatasa alcalina, beta-galactosidasa o acetilcolinesterasa; grupos prostéticos, tales como, pero sin limitarse a, estreptavidina/biotina y avidina/biotina; materiales fluorescentes, tales como, pero sin limitarse a, umbeliferona, fluoresceína, isotiocinato de fluoresceína, rodamina, diclorotriazinilamina, fluoresceína, cloruro de dansilo o ficoeritrina; materiales luminiscentes, tales como, pero sin limitarse a, luminol; materiales bioluminiscentes, tales como pero sin limitarse a, luciferasa, luciferina y aequorina; materiales radiactivos, tales como, pero sin limitarse a, yodo ( $^{131}\text{I}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{123}\text{I}$  y  $^{121}\text{I}$ ), carbono ( $^{14}\text{C}$ ), azufre ( $^{35}\text{S}$ ), tritio ( $^3\text{H}$ ), indio ( $^{115}\text{In}$ ,  $^{113}\text{In}$ ,  $^{112}\text{In}$  y  $^{111}\text{In}$ ), tecnecio ( $^{99}\text{Tc}$ ), talio ( $^{201}\text{Tl}$ ), galio ( $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{67}\text{Ga}$ ), paladio ( $^{102}\text{Pd}$ ), molibdeno ( $^{99}\text{Mo}$ ), xenón ( $^{133}\text{Xe}$ ), flúor ( $^{18}\text{F}$ ),  $^{153}\text{Sm}$ ,  $^{177}\text{Lu}$ ,  $^{159}\text{Gd}$ ,  $^{149}\text{Sm}$ ,  $^{140}\text{La}$ ,  $^{175}\text{Yb}$ ,  $^{166}\text{Ho}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{47}\text{Sc}$ ,  $^{186}\text{Re}$ ,  $^{188}\text{Re}$ ,  $^{142}\text{Pr}$ ,  $^{105}\text{Rh}$ ,  $^{97}\text{Ru}$ ,  $^{68}\text{Ge}$ ,  $^{57}\text{Co}$ ,  $^{65}\text{Zn}$ ,  $^{85}\text{Sr}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{153}\text{Gd}$ ,  $^{169}\text{Yb}$ ,  $^{51}\text{Cr}$ ,  $^{54}\text{Mn}$ ,  $^{75}\text{Se}$ ,  $^{113}\text{Sn}$  y  $^{117}\text{Sn}$ ; y metales que emiten positrones que usan diversas tomografías de emisión de positrones, e iones de metales paramagnéticos no radiactivos.

En algunas realizaciones, la molécula heteróloga es una secuencia de aminoácidos de marcador o un péptido penetrante. Las secuencias de aminoácidos de marcador puede facilitar la purificación de una proteína. Los ejemplos de secuencias de aminoácidos de marcador incluyen, pero no se limitan a, un péptido de hexa-histidina (tal como la etiqueta proporcionada en un vector pQE (QIAGEN, Inc.)), una etiqueta de hemaglutinina ("HA") (que se corresponde con un epitopo derivado de la proteína hemaglutinina de la gripe (Wilson *et al.*, 1984, Cell 37:767)), el dominio Fc de una inmunoglobulina y la etiqueta "flag".

#### 5.2.4 Ácidos nucleicos

##### 5.2.4.1 Ácidos nucleicos de B7-H7

En un aspecto, se presentan en el presente documento agentes terapéuticos que son ácidos nucleicos que codifican para B7-H7. En una realización, el B7-H7 codificado por el ácido nucleico puede unirse a uno o más receptores de B7-H7 nativo (por ejemplo, B7-H7CR). En una realización específica, el B7-H7 codificado por los ácidos nucleicos puede unirse a B7-H7CR. En realizaciones específicas, el B7-H7 codificado por los ácidos nucleicos son agentes terapéuticos inmunoestimulantes. En otras realizaciones específicas, el B7-H7 codificado por los ácidos nucleicos son agentes terapéuticos inhibidores.

En la técnica se conocen secuencias de ácido nucleico que codifican para B7-H7 nativo y se han descrito en la bibliografía. Por ejemplo, las secuencias de ácido nucleico que codifican para B7-H7 nativo pueden encontrarse en publicaciones y bases de datos públicamente disponibles, por ejemplo, el sitio web del National Center for Biotechnology Information en ncbi.nlm.nih.gov. Pueden usarse técnicas de clonación bien conocidas en la técnica para generar ácidos nucleicos que codifican para B7-H7. Véanse, por ejemplo, Ausubel *et al.*, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley y Sons, Inc. (1995); Sambrook *et al.*, Molecular Cloning, A Laboratory Manual (2ª ed.), Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989); Birren *et al.*, Genome Analysis: A Laboratory Manual, volúmenes 1 a 4, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1997-1999).

En una realización, el agente terapéutico comprende ácidos nucleicos que codifican para B7-H7 nativo. En otra realización, el agente terapéutico comprende ácidos nucleicos que codifican para una proteína de fusión descrita en la sección 5.2.3, anteriormente. En otra realización, el agente terapéutico comprende ácidos nucleicos que codifican para un derivado de B7-H7. Véase la sección 5.2.2.1, anteriormente, para derivados de B7-H7 que los ácidos nucleicos pueden codificar.

En realizaciones específicas, los ácidos nucleicos que codifican para B7-H7 incluyen: (a) una secuencia de ácido nucleico que es al menos el 40%, el 45%, el 50%, el 55%, el 60%, el 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%,

el 95%, el 98% o el 99%, o es del 40% al 65%, del 50% al 90%, del 65% al 90%, del 70% al 90%, del 75% al 95%, del 80% al 95% o del 85% al 99% idéntica a la secuencia de ácido nucleico que se produce de manera natural que codifica para un polipéptido de B7-H7 nativo; (b) una secuencia de ácido nucleico que codifica para un polipéptido que es al menos el 40%, el 45%, el 50%, el 55%, el 60%, el 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o es del 40% al 65%, del 50% al 90%, del 65% al 90%, del 70% al 90%, del 75% al 95%, del 80% al 95% o del 85% al 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de un polipéptido de B7-H7 nativo; (c) una secuencia de ácido nucleico que contiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más, o de 2 a 5, de 2 a 10, de 5 a 10, de 5 a 15, de 5 a 20, de 10 a 15 o de 15 a 20 mutaciones de bases de ácido nucleico (por ejemplo, adiciones, deleciones y/o sustituciones) en relación con la secuencia de ácido nucleico que se produce de manera natural que codifica para un polipéptido de B7-H7 nativo; (d) una secuencia de ácido nucleico que se hibrida en condiciones de hibridación de rigurosidad alta, moderada o típica con una secuencia de ácido nucleico que se produce de manera natural que codifica para un polipéptido de B7-H7 nativo; (e) una secuencia de ácido nucleico que se hibrida en condiciones de hibridación de rigurosidad alta, moderada o típica con un fragmento de una secuencia de ácido nucleico que se produce de manera natural que codifica para un polipéptido de B7-H7 nativo; y (f) una secuencia de ácido nucleico que codifica para un fragmento de una secuencia de ácido nucleico que se produce de manera natural que codifica para un polipéptido de B7-H7 nativo.

En una realización específica, una secuencia de ácido nucleico que codifica para un polipéptido de B7-H7 es un derivado de una secuencia de ácido nucleico que se produce de manera natural que codifica para un polipéptido de B7-H7 humano nativo. En otra realización, una secuencia de ácido nucleico que codifica para un polipéptido de B7-H7 es un derivado de una secuencia de ácido nucleico que se produce de manera natural que codifica para una forma inmadura o precursora de un polipéptido de B7-H7 humano nativo. En otra realización, una secuencia de ácido nucleico que codifica para un polipéptido de B7-H7 es un derivado de una secuencia de ácido nucleico que se produce de manera natural que codifica para una forma madura de un polipéptido de B7-H7 humano nativo. En otra realización, una secuencia de ácido nucleico codifica para un derivado de B7-H7 descrito en la sección 5.2.2.1, anteriormente. En determinadas realizaciones, la secuencia de ácido nucleico que codifica para un polipéptido de B7-H7 incluye residuos que no se producen de manera natural.

En determinadas realizaciones, las secuencias de ácido nucleico incluyen secuencias de ácido nucleico con codones optimizados que codifican para el polipéptido de B7-H7 nativo, incluyendo formas maduras e inmaduras del polipéptido de B7-H7. En otras realizaciones, las secuencias de ácido nucleico incluyen ácidos nucleicos que codifican para transcritos de ARN de B7-H7 que contienen mutaciones que eliminan posibles sitios de corte y empalme y elementos de inestabilidad (por ejemplo, elementos ricos en A/T o A/U) sin afectar a la secuencia de aminoácidos para aumentar la estabilidad de los transcritos de ARN de B7-H7.

En determinadas realizaciones, las secuencias de ácido nucleico codifican para un polipéptido de B7-H7 que conserva al menos el 25%, el 30%, el 35%, el 40%, el 45%, el 50%, el 55%, el 60%, el 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 25% y el 98%, el 50% y el 75% o el 75% y el 100% de la función de un polipéptido de B7-H7 nativo para unirse a un receptor nativo de polipéptido de B7-H7 (por ejemplo, B7-H7CR), tal como se mide mediante ensayos bien conocidos en la técnica, por ejemplo, ELISA, Biacore o inmunoprecipitación conjunta. En una realización específica, las secuencias de ácido nucleico codifican para un polipéptido de B7-H7 que conserva al menos el 25%, el 30%, el 35%, el 40%, el 45%, el 50%, el 55%, el 60%, el 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 25% y el 98%, el 50% y el 75% o el 75% y el 100% de la función de un polipéptido de B7-H7 nativo para unirse a B7-H7CR.

En determinadas realizaciones, las secuencias de ácido nucleico codifican para un polipéptido de B7-H7 que tiene una afinidad mayor por un receptor nativo de B7-H7 (por ejemplo, B7-H7CR nativo) que B7-H7 nativo por el mismo receptor, tal como se mide mediante ensayos/técnicas bien conocidos en la técnica, por ejemplo, ELISA, Biacore o inmunoprecipitación conjunta. En una realización, las secuencias de ácido nucleico codifican para un polipéptido de B7-H7 que se une a un receptor nativo de B7-H7 (por ejemplo, B7-H7CR) con el 25%, el 50%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, o del 25% al 50%, del 50% al 75%, del 75% al 95% o del 50% al 95% de más afinidad que B7-H7 nativo por el mismo receptor, tal como se mide mediante ensayos/técnicas conocidos. En una realización específica, las secuencias de ácido nucleico codifican para un polipéptido de B7-H7 que se une a un receptor nativo de B7-H7 (por ejemplo, B7-H7CR) con 0,5 log, 1 log, 1,5 log, 2 log, 2,5 log o 3 log más afinidad que con la que el B7-H7 nativo se une al mismo receptor, tal como se mide mediante ensayos/técnicas bien conocidos en la técnica, por ejemplo, ELISA, Biacore o inmunoprecipitación conjunta.

En determinadas realizaciones, las secuencias de ácido nucleico codifican para un polipéptido de B7-H7 que se une a un receptor nativo de B7-H7 con una afinidad menor que con la que el B7-H7 nativo se une al mismo receptor, tal como se mide mediante ensayos/técnicas bien conocidos. En una realización, las secuencias de ácido nucleico codifican para un polipéptido de B7-H7 que se une a un receptor nativo de B7-H7 con el 25%, el 50%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, del 25% al 50%, del 25% al 75%, del 50% al 75%, del 50% al 95% o del 75% al 95% de menos afinidad que con la que el B7-H7 nativo se une al mismo receptor, tal como se mide mediante ensayos/técnicas bien conocidos. En otra realización, las secuencias de ácido nucleico codifican para un polipéptido de B7-H7 que se une a un receptor nativo de B7-H7 con 0,5 log, 1 log, 1,5 log, 2 log, 2,5 log o 3 log menos afinidad

que con la que el B7-H7 nativo se une al mismo receptor, tal como se mide mediante ensayos/técnicas bien conocidos.

En otras realizaciones determinadas, las secuencias de ácido nucleico codifican para un polipéptido de B7-H7 que conserva menos del 20%, el 15%, el 10%, el 5% o el 2%, o en el intervalo de entre el 2% y el 20%, el 2% y el 15%, el 2% y el 10% o el 2% y el 5% de la función de un polipéptido de B7-H7 nativo para unirse a un receptor nativo de B7-H7 (por ejemplo, B7-H7CR), tal como se mide mediante ensayos bien conocidos en la técnica, por ejemplo, ELISA, Biacore o inmunoprecipitación conjunta. En una realización específica, las secuencias de ácido nucleico codifican para un polipéptido de B7-H7 que conserva menos del 20%, el 15%, el 10%, el 5% o el 2%, o en el intervalo de entre el 2% y el 20%, el 2% y el 15%, el 2% y el 10% o el 2% y el 5% de la función de un polipéptido de B7-H7 nativo para unirse a B7-H7CR.

En algunas realizaciones, las secuencias de ácido nucleico codifican para un polipéptido de B7-H7 que conserva al menos el 25%, el 30%, el 35%, el 40%, el 45%, el 50%, el 55%, el 60%, el 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 25% y el 98%, el 50% y el 75% o el 75% y el 100% de la capacidad para activar o inducir una o más de las rutas de transducción de señales inducidas cuando un receptor nativo de B7-H7 (por ejemplo, B7-H7CR) se une a un polipéptido de B7-H7 nativo, tal como se mide mediante ensayos bien conocidos en la técnica. La una o más rutas de transducción de señales inducidas por la unión de un polipéptido de B7-H7 a un receptor de B7-H7 (por ejemplo, B7-H7CR) pueden medirse, por ejemplo, evaluando la activación de un resto de transducción de señales (por ejemplo, activación de Jun cinasa, activación de MAP cinasa, activación de PKC), la translocación de un factor de transcripción (por ejemplo, NF-kappa B o Stat1) y la producción de citocinas (por ejemplo, IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-17, interferón-gamma o factor de necrosis tumoral alfa) usando técnicas tales como ELISA, inmunotransferencias de tipo Western, ensayos de desplazamiento de electromovilidad y otros inmunoensayos. En una realización específica, las secuencias de ácido nucleico codifican para un polipéptido de B7-H7 que conserva al menos el 25%, el 30%, el 35%, el 40%, el 45%, el 50%, el 55%, el 60%, el 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 25% y el 98%, el 50% y el 75% o el 75% y el 100% de la capacidad para activar o inducir una o más de las rutas de transducción de señales inducidas por la unión de un polipéptido de B7-H7 nativo a B7-H7CR.

En determinadas realizaciones, las secuencias de ácido nucleico codifican para un polipéptido de B7-H7 que se une a su receptor nativo (por ejemplo, B7-H7CR nativo) e induce un nivel mayor de actividad que la unión de B7-H7 nativo al receptor nativo tal como se evalúa mediante, por ejemplo, la activación o inducción de una o más moléculas de transducción de señales. En realizaciones específicas, las secuencias de ácido nucleico codifican para un polipéptido de B7-H7 que se une a B7-H7CR e induce un nivel mayor de actividad que la unión de B7-H7 nativo a B7-H7CR nativo tal como se evalúa mediante, por ejemplo, la activación o inducción de una o más moléculas de transducción de señales. En algunas realizaciones, las secuencias de ácido nucleico codifican para un polipéptido de B7-H7 que se une a B7-H7CR e induce al menos el 25%, el 30%, el 35%, el 40%, el 45%, el 50%, el 55%, el 60%, el 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 25% y el 98%, el 50% y el 75%, el 50% y el 98% o el 75% y el 90% de más nivel de actividad que la unión de B7-H7 nativo a B7-H7CR nativo tal como se evalúa mediante, por ejemplo, la activación o inducción de una o más moléculas de transducción de señales.

En algunas otras realizaciones, las secuencias de ácido nucleico codifican para un polipéptido de B7-H7 que conserva menos del 20%, el 15%, el 10%, el 5% o el 2%, o en el intervalo de entre el 2% y el 20%, el 2% y el 15%, el 2% y el 10% o el 2% y el 5% de la capacidad para activar o inducir una o más de las rutas de transducción de señales inducidas cuando un polipéptido de B7-H7 nativo se une a un receptor de un receptor nativo de B7-H7 (por ejemplo, B7-H7CR), tal como se mide mediante ensayos bien conocidos en la técnica. En una realización específica, las secuencias de ácido nucleico codifican para un polipéptido de B7-H7 que conserva menos del 20%, el 15%, el 10%, el 5% o el 2%, o en el intervalo de entre el 2% y el 20%, el 2% y el 15%, el 2% y el 10% o el 2% y el 5% de la capacidad para activar o inducir una o más de las rutas de transducción de señales inducidas por la unión de un polipéptido de B7-H7 nativo a B7-H7CR.

#### 5.2.4.2 Ácidos nucleicos de B7-H7CR

En un aspecto, se presentan en el presente documento agentes terapéuticos que son ácidos nucleicos que codifican para B7-H7CR. En una realización, el B7-H7CR codificado por los ácidos nucleicos puede unirse a uno o más ligandos de B7-H7CR nativo (por ejemplo, B7-H7). En una realización específica, el B7-H7CR codificado por los ácidos nucleicos puede unirse a B7-H7. En realizaciones específicas, el B7-H7CR codificado por los ácidos nucleicos son agentes terapéuticos inmunoestimulantes. En otras realizaciones específicas, el B7-H7CR codificado por los ácidos nucleicos son agentes terapéuticos inhibidores.

En la técnica se conocen secuencias de ácido nucleico que codifican para B7-H7CR nativo y se han descrito en la bibliografía. Por ejemplo, las secuencias de ácido nucleico que codifican para B7-H7CR nativo pueden encontrarse en publicaciones y bases de datos públicamente conocidas, por ejemplo, el sitio web del National Center for Biotechnology Information en [ncbi.nlm.nih.gov](http://ncbi.nlm.nih.gov). Pueden usarse técnicas de clonación bien conocidas en la técnica

para generar ácidos nucleicos que codifican para B7-H7CR. Véase, por ejemplo, Ausubel *et al.*, *Current Protocols in Biología molecular*, John Wiley y Sons, Inc. (1995); Sambrook *et al.*, *Molecular Cloning, A Laboratory Manual* (2ª ed.), Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989); Birren *et al.*, *Genome Analysis: A Laboratory Manual*, volúmenes 1 a 4, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1997-1999).

5 En una realización, el agente terapéutico comprende ácidos nucleicos que codifican para B7-H7CR nativo. En otra realización, el agente terapéutico comprende ácidos nucleicos que codifican para una proteína de fusión descrita en la sección 5.2.3, anteriormente. En otra realización, el agente terapéutico comprende ácidos nucleicos que codifican para un derivado de B7-H7CR. Véase la sección 5.2.2.2, anteriormente, para derivados de B7-H7CR que los ácidos nucleicos pueden codificar.

10 En realizaciones específicas, los ácidos nucleicos que codifican para B7-H7CR incluyen: (a) una secuencia de ácido nucleico que es al menos el 40%, el 45%, el 50%, el 55%, el 60%, el 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o es del 40% al 65%, del 50% al 90%, del 65% al 90%, del 70% al 90%, del 75% al 95%, del 80% al 95% o del 85% al 99% idéntica a la secuencia de ácido nucleico que se produce de manera natural que codifica para un polipéptido de B7-H7CR nativo; (b) una secuencia de ácido nucleico que codifica para un polipéptido que es al menos el 40%, el 45%, el 50%, el 55%, el 60%, el 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o es del 40% al 65%, del 50% al 90%, del 65% al 90%, del 70% al 90%, del 75% al 95%, del 80% al 95% o del 85% al 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de un polipéptido de B7-H7CR nativo; (c) una secuencia de ácido nucleico que contiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más, o de 2 a 5, de 2 a 10, de 5 a 10, de 5 a 15, de 5 a 20, de 10 a 15 o de 15 a 20 mutaciones de bases de ácidos nucleicos (por ejemplo, adiciones, deleciones y/o sustituciones) en relación con la secuencia de ácido nucleico que se produce de manera natural que codifica para un polipéptido de B7-H7CR nativo; (d) una secuencia de ácido nucleico que se hibrida en condiciones de hibridación de rigurosidad alta, moderada o típica con una secuencia de ácido nucleico que se produce de manera natural que codifica para un polipéptido de B7-H7CR nativo; (e) una secuencia de ácido nucleico que se hibrida en condiciones de hibridación de rigurosidad alta, moderada o típica con un fragmento de una secuencia de ácido nucleico que se produce de manera natural que codifica para un polipéptido de B7-H7CR nativo; y (f) una secuencia de ácido nucleico que codifica para un fragmento de una secuencia de ácido nucleico que se produce de manera natural que codifica para un polipéptido de B7-H7CR nativo.

20 En una realización específica, un derivado de B7-H7CR en el contexto de ácidos nucleicos es un derivado de una secuencia de ácido nucleico que se produce de manera natural que codifica para un polipéptido de B7-H7CR humano. En otra realización, un derivado de B7-H7CR en el contexto de ácidos nucleicos es un derivado de una secuencia de ácido nucleico que se produce de manera natural que codifica para una forma inmadura o precursora de un polipéptido de B7-H7CR humano nativo. En otra realización, un derivado de B7-H7CR en el contexto de ácidos nucleicos es un derivado de una secuencia de ácido nucleico que se produce de manera natural que codifica para una forma madura de un polipéptido de B7-H7CR humano nativo.

25 En una realización específica, una secuencia de ácido nucleico que codifica para un polipéptido de B7-H7CR es un derivado de una secuencia de ácido nucleico que se produce de manera natural que codifica para un polipéptido de B7-H7CR humano nativo. En otra realización, una secuencia de ácido nucleico que codifica para un polipéptido de B7-H7CR es un derivado de una secuencia de ácido nucleico que se produce de manera natural que codifica para una forma inmadura o precursora de un polipéptido de B7-H7CR humano nativo. En otra realización, una secuencia de ácido nucleico que codifica para un polipéptido de B7-H7CR es un derivado de una secuencia de ácido nucleico que se produce de manera natural que codifica para una forma madura de un polipéptido de B7-H7 humano nativo. En otra realización, una secuencia de ácido nucleico codifica para un derivado de B7-H7CR descrito en la sección 5.2.2.2, anteriormente. En determinadas realizaciones, la secuencia de ácido nucleico que codifica para un polipéptido de B7-H7CR incluye residuos que no se producen de manera natural.

30 En determinadas realizaciones, las secuencias de ácido nucleico incluyen secuencias de ácido nucleico con codones optimizados que codifican para polipéptido de B7-H7CR nativo, incluyendo formas maduras e inmaduras del polipéptido de B7-H7CR. En otras realizaciones, las secuencias de ácido nucleico incluyen ácidos nucleicos que codifican para transcritos de ARN de B7-H7CR que contienen mutaciones que eliminan posibles sitios de corte y empalme y elementos de inestabilidad (por ejemplo, elementos ricos en A/T o A/U) sin afectar a la secuencia de aminoácidos para aumentar la estabilidad de los transcritos de ARN de B7-H7CR de mamífero.

35 En determinadas realizaciones, las secuencias de ácido nucleico codifican para un polipéptido de B7-H7CR que conserva al menos el 25%, el 30%, el 35%, el 40%, el 45%, el 50%, el 55%, el 60%, el 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 25% y el 98%, el 50% y el 75% o el 75% y el 100% de la función de un polipéptido de B7-H7CR nativo para unirse a un ligando nativo de B7-H7CR (por ejemplo, B7-H7), tal como se mide mediante ensayos bien conocidos en la técnica, por ejemplo, ELISA, Biacore o inmunoprecipitación conjunta. En una realización específica, las secuencias de ácido nucleico codifican para un polipéptido de B7-H7CR que conserva al menos el 25%, el 30%, el 35%, el 40%, el 45%, el 50%, el 55%, el 60%, el 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 25% y el 98%, el 50% y el 75% o el 75% y el 100% de la función de un polipéptido de B7-H7CR nativo para unirse a B7-H7.

En determinadas realizaciones, las secuencias de ácido nucleico codifican para un polipéptido de B7-H7CR que tiene una afinidad mayor por un ligando nativo de B7-H7CR (por ejemplo, B7-H7 nativo) que B7-H7CR nativo por el mismo ligando, tal como se mide mediante ensayos/técnicas bien conocidos en la técnica, por ejemplo, ELISA, Biacore o inmunoprecipitación conjunta. En una realización, las secuencias de ácido nucleico codifican para un polipéptido de B7-H7CR que se une a un ligando nativo de B7-H7CR (por ejemplo, B7-H7) con el 25%, el 50%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, o del 25% al 50%, del 50% al 75%, del 75% al 95% o del 50% al 95% de más afinidad que B7-H7CR nativo por el mismo ligando, tal como se mide mediante ensayos/técnicas conocidos. En una realización específica, las secuencias de ácido nucleico codifican para un polipéptido de B7-H7CR que se une a un ligando nativo de B7-H7CR (por ejemplo, B7-H7) con 0,5 log, 1 log, 1,5 log, 2 log, 2,5 log o 3 log más afinidad que con la que el B7-H7CR nativo se une al mismo ligando, tal como se mide mediante ensayos/técnicas bien conocidos en la técnica, por ejemplo, ELISA, Biacore o inmunoprecipitación conjunta.

En determinadas realizaciones, las secuencias de ácido nucleico codifican para un polipéptido de B7-H7CR que se une a un ligando nativo de B7-H7CR con una afinidad menor que con la que el B7-H7CR nativo se une al mismo ligando, tal como se mide mediante ensayos/técnicas bien conocidos. En una realización, las secuencias de ácido nucleico codifican para un polipéptido de B7-H7CR que se une a un ligando nativo de B7-H7CR con el 25%, el 50%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, del 25% al 50%, del 25% al 75%, del 50% al 75%, del 50% al 95% o del 75% al 95% de menos afinidad que con la que el B7-H7CR nativo se une al mismo ligando, tal como se mide mediante ensayos/técnicas bien conocidos. En otra realización, las secuencias de ácido nucleico codifican para un polipéptido de B7-H7CR que se une a un ligando nativo de B7-H7CR con 0,5 log, 1 log, 1,5 log, 2 log, 2,5 log o 3 log menos afinidad que con la que el B7-H7CR nativo se une al mismo ligando, tal como se mide mediante ensayos/técnicas bien conocidos.

En otras realizaciones determinadas, las secuencias de ácido nucleico codifican para un polipéptido de B7-H7CR que conserva menos del 20%, el 15%, el 10%, el 5% o el 2%, o en el intervalo de entre el 2% y el 20%, el 2% y el 15%, el 2% y el 10% o el 2% y el 5% de la función de un polipéptido de B7-H7CR nativo para unirse a un ligando nativo de B7-H7CR (por ejemplo, B7-H7), tal como se mide mediante ensayos bien conocidos en la técnica, por ejemplo, ELISA, Biacore o inmunoprecipitación conjunta. En una realización específica, las secuencias de ácido nucleico codifican para un polipéptido de B7-H7CR que conserva menos del 20%, el 15%, el 10%, el 5% o el 2%, o en el intervalo de entre el 2% y el 20%, el 2% y el 15%, el 2% y el 10% o el 2% y el 5% de la función de un polipéptido de B7-H7CR nativo para unirse a B7-H7.

En algunas realizaciones, las secuencias de ácido nucleico codifican para un polipéptido de B7-H7CR que conserva al menos el 25%, el 30%, el 35%, el 40%, el 45%, el 50%, el 55%, el 60%, el 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 25% y el 98%, el 50% y el 75% o el 75% y el 100% de la capacidad para activar o inducir una o más de las rutas de transducción de señales inducidas cuando un ligando nativo de B7-H7CR (por ejemplo, B7-H7) se une a un polipéptido de B7-H7CR nativo, tal como se mide mediante ensayos bien conocidos en la técnica. La una o más rutas de transducción de señales inducidas por la unión de un ligando de polipéptido de B7-H7CR a un polipéptido de B7-H7CR pueden medirse, por ejemplo, evaluando la activación de un resto de transducción de señales (por ejemplo, activación de Jun cinasa, activación de MAP cinasa, activación de PKC), la translocación de un factor de transcripción (por ejemplo, NF-kappa B o Stat1) y la producción de citocinas (por ejemplo, IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-17, interferón-gamma o factor de necrosis tumoral alfa) usando técnicas tales como ELISA, inmunotransferencias de tipo Western, ensayos de desplazamiento de electromovilidad y otros inmunoensayos. En una realización específica, las secuencias de ácido nucleico de derivado de B7-H7CR codifican para una proteína o polipéptido que conserva al menos el 25%, el 30%, el 35%, el 40%, el 45%, el 50%, el 55%, el 60%, el 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 25% y el 98%, el 50% y el 75% o el 75% y el 100% de la capacidad para activar o inducir una o más de las rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a un polipéptido de B7-H7CR nativo.

En determinadas realizaciones, las secuencias de ácido nucleico codifican para un polipéptido de B7-H7CR que se une a su ligando nativo (por ejemplo, B7-H7 nativo) e induce un nivel mayor de actividad que la unión de B7-H7CR nativo al ligando nativo tal como se evalúa mediante, por ejemplo, la inducción de una o más moléculas de transducción de señales. En realizaciones específicas, las secuencias de ácido nucleico codifican para un polipéptido de B7-H7CR que se une a B7-H7 e induce un nivel mayor de actividad que la unión de B7-H7CR nativo a B7-H7 nativo tal como se evalúa mediante, por ejemplo, la inducción de una o más moléculas de transducción de señales. En algunas realizaciones, las secuencias de ácido nucleico codifican para un polipéptido de B7-H7CR que se une a B7-H7 e induce al menos el 25%, el 30%, el 35%, el 40%, el 45%, el 50%, el 55%, el 60%, el 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 25% y el 98%, el 50% y el 75%, el 50% y el 98% o el 75% y el 90% de más nivel de actividad que la unión de B7-H7CR nativo a B7-H7 nativo tal como se evalúa mediante, por ejemplo, la inducción de una o más moléculas de transducción de señales.

En algunas otras realizaciones, las secuencias de ácido nucleico codifican para un polipéptido de B7-H7CR que conserva menos del 20%, el 15%, el 10%, el 5% o el 2%, o en el intervalo de entre el 2% y el 20%, el 2% y el 15%,

el 2% y el 10% o el 2% y el 5% de la capacidad para activar o inducir una o más de las rutas de transducción de señales inducidas cuando un ligando nativo (por ejemplo, B7-H7) se une a un polipéptido de B7-H7CR nativo, tal como se mide mediante ensayos bien conocidos en la técnica. En una realización específica, las secuencias de ácido nucleico codifican para un polipéptido de B7-H7CR que conserva menos del 20%, el 15%, el 10%, el 5% o el 2%, o en el intervalo de entre el 2% y el 20%, el 2% y el 15%, el 2% y el 10% o el 2% y el 5% de la capacidad para activar o inducir una o más de las rutas de transducción de señales inducidas por la unión de B7-H7 a un polipéptido de B7-H7CR nativo.

#### 5.2.4.3 Ácidos nucleicos que codifican para anticuerpos

En un aspecto, un agente terapéutico es una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo que modula la interacción entre B7-H7 y uno o más de sus receptores (por ejemplo, B7-H7CR). En otro aspecto, un agente terapéutico es una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo que modula la interacción entre B7-H7CR y uno o más de sus ligandos (por ejemplo, B7-H7). En una realización específica, un agente terapéutico es una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo que modula la interacción del polipéptido de B7-H7 y el polipéptido de B7-H7CR. En una realización específica, el agente terapéutico es una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido de B7-H7 e inhibe o reduce la unión del polipéptido de B7-H7 al polipéptido de B7-H7CR. En otra realización específica, un agente terapéutico es una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido de B7-H7CR e inhibe o reduce la unión del polipéptido de B7-H7CR al polipéptido de B7-H7. En realizaciones específicas, un agente terapéutico es un anticuerpo (incluyendo conjugados de anticuerpo o proteínas de fusión) descrito en la sección 5.1, anteriormente o la sección 5.2.1, anteriormente. En algunas realizaciones, los anticuerpos codificados por las secuencias de ácido nucleico son agentes terapéuticos inmunoestimulantes. En otras realizaciones, los anticuerpos codificados por las secuencias de ácido nucleico son agentes terapéuticos inhibidores.

#### 5.2.4.4 Constructos y expresión recombinante

Los ácidos nucleicos que codifican para una proteína pueden insertarse en constructos de ácido nucleico para la expresión en células de mamífero, células de animales distintos de mamífero, células de insecto, células vegetales, bacterias, hongo, levadura y virus.

Los constructos de ácido nucleico pueden comprender uno o más elementos de regulación transcripcional operativamente unidos a la secuencia codificante de una proteína. Los elementos de regulación transcripcional se encuentran normalmente en 5' con respecto a la secuencia codificante y dirigen la transcripción de los ácidos nucleicos que codifican para una proteína. En algunas realizaciones, se usan uno o más de los elementos de regulación transcripcional que se encuentran en la naturaleza que regulan la transcripción del gen nativo para controlar la transcripción. En otras realizaciones, se usan uno o más elementos de regulación transcripcional que son heterólogos con respecto al gen nativo para controlar la transcripción. Puede usarse cualquier elemento de regulación transcripcional conocido por un experto en la técnica. Los ejemplos no limitativos de los tipos de elemento(s) de regulación transcripcional(es) incluyen un promotor constitutivo, un promotor específico de tejido y un promotor inducible. En una realización específica, se controla la transcripción, al menos en parte, mediante un/unos elemento(s) de regulación transcripcional(es) de mamífero (en algunas realizaciones, ser humano). En una realización específica, se controla la transcripción, al menos en parte, mediante un promotor fuerte, por ejemplo, CMV.

Los ejemplos específicos de promotores que pueden usarse para controlar la transcripción incluyen, pero no se limitan a, la región promotora temprana de SV40 (Bernoiist & Chambon, 1981, Nature 290:304-310), el promotor contenido en la repetición terminal larga en 3' del virus del sarcoma de Rous (Yamamoto *et al.*, 1980, Cell 22:787-797), el promotor de la timidina cinasa del herpes (Wagner *et al.*, 1981, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 78:1441-1445), las secuencias reguladoras del gen de la metalotioneína (Brinster *et al.*, 1982, Nature 296:39-42); adenovirus (ADV), citomegalovirus (CMV), virus del papiloma bovino (BPV), promotor de parovirus B19p6, vectores de expresión procariota tales como el promotor de beta-lactamasa (Villa-Kamaroff *et al.*, 1978, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 75:3727-3731) o el promotor tac (DeBoer *et al.*, 1983, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 80:21-25); véase también "Useful proteins from recombinant bacteria" en Scientific American, 1980, 242:74-94; vectores de expresión de plantas que comprenden la región promotora de nopalina sintetasa (Herrera-Estrella *et al.*, Nature 303:209-213) o el promotor de ARN 35S del virus del mosaico de la coliflor (Gardner, *et al.*, 1981, Nucl. Acids Res. 9:2871), y el promotor de la enzima fotosintética ribulosa bifosfato carboxilasa (Herrera-Estrella *et al.*, 1984, Nature 310:115-120); elementos promotores de levadura u otros hongos tales como el promotor Gal 4, el promotor de la ADC (alcohol deshidrogenasa), promotor de la PGK (fosfoglicerol cinasa), promotor de la fosfatasa alcalina, y las siguientes regiones de control de la transcripción animal, que presentan especificidad de tejido y se han utilizado en animales transgénicos: región de control del gen de la elastasa I que es activa en células pancreáticas acinares (Swift *et al.*, 1984, Cell 38:639-646; Ornitz *et al.*, 1986, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 50:399-409; MacDonald, 1987, Hepatology 7:425-515); región de control del gen de la insulina que es activa en células pancreáticas beta (Hanahan, 1985, Nature 315:115-122), región de control del gen de la inmunoglobulina que es activa en células linfoides (Grosschedl *et al.*, 1984, Cell 38:647-658; Adames *et al.*, 1985, Nature 318:533-538; Alexander *et al.*, 1987, Mol. Cell. Biol. 7:1436-1444), región de control del virus de tumor mamario de ratón que es activa en células testiculares,

de mama, linfoides y mastocitos (Leder *et al.*, 1986, Cell 45:485-495), región de control del gen de la albúmina que es activa en el hígado (Pinkert *et al.*, 1987, Genes y Devel. 1:268-276), región de control del gen de la alfa-fetoproteína que es activa en el hígado (Krumlauf *et al.*, 1985, Mol. Cell. Biol. 5:1639-1648; Hammer *et al.*, 1987, Science 235:53-58; región de control del gen de la alfa 1-antitripsina que es activa en el hígado (Kelsey *et al.*, 1987, Genes y Devel. 1:161-171), región de control del gen de la beta-globina que es activa en células mieloides (Mogram *et al.*, 1985, Nature 315:338-340; Kollias *et al.*, 1986, Cell 46:89-94; región de control del gen de la proteína básica de la mielina que es activa en células oligodendrocíticas en el cerebro (Readhead *et al.*, 1987, Cell 48:703-712); región de control del gen de la cadena ligera 2 de miosina que es activa en el músculo esquelético (Sani, 1985, Nature 314:283-286) y región de control del gen de la hormona liberadora gonadotrópica que es activa en el hipotálamo (Mason *et al.*, 1986, Science 234:1372-1378). En otros aspectos, puede usarse un promotor inducible.

Los constructos de ácido nucleico también pueden comprender uno o más elemento(s) de regulación postranscripcional operativamente unido(s) a la secuencia codificante de una proteína. Los elementos de regulación postranscripcional pueden estar en 5' y/o 3' con respecto a la secuencia codificante y dirigir la regulación postranscripcional de la traducción de transcritos de ARN que codifican para una proteína.

En otro aspecto, el constructo de ácido nucleico puede ser un vector de direccionamiento génico que reemplaza a una región reguladora existente de un gen por una secuencia reguladora aislada de un gen diferente o una secuencia reguladora novedosa tal como se describe, por ejemplo, en las publicaciones internacionales n.ºs WO 94/12650 y WO 01/68882, que se incorporan como referencia en el presente documento en su totalidad.

El constructo de ácido nucleico elegido dependerá de una variedad de factores, incluyendo, sin limitación, la resistencia de los elementos de regulación transcripcional y la célula que va a usarse para expresar una proteína. Los constructos de ácido nucleico pueden ser un plásmido, fagémido, cósmido, vector viral, fago, cromosoma artificial, y similares. En un aspecto, los vectores pueden ser vectores episomales, de integración homóloga o no homóloga, que pueden introducirse en las células adecuadas mediante cualquier medio adecuado (transformación, transfección, conjugación, fusión de protoplastos, electroporación, precipitación con fosfato de calcio, microinyección directa, etc.) para transformarlas.

Los constructos de ácido nucleico pueden ser un plásmido o un vector de integración estable para la expresión transitoria o estable de una proteína en células. Para la expresión estable, el vector puede mediar en la integración cromosómica en un sitio diana o un sitio cromosómico aleatorio. Los ejemplos no limitativos de sistemas de célula-vector que pueden usarse para expresar una proteína incluyen sistemas de células de mamífero infectadas con virus (por ejemplo, virus de vaccinia, adenovirus, retrovirus, lentivirus, etc.); sistemas de células de insecto infectadas con virus (por ejemplo, baculovirus); microorganismos tales como levadura que contiene vectores de levadura, o bacterias transformadas con bacteriófago, ADN, ADN plasmídico o ADN cósmido; y líneas celulares estables generadas mediante transformación usando un marcador seleccionable. En algunas realizaciones, los constructos de ácido nucleico incluyen un gen marcador seleccionable incluyendo, pero sin limitarse a, neo, gpt, dhfr, ada, pac, hyg, CAD e hisD.

Los constructos de ácido nucleico pueden ser monocistrónicos o multicistrónicos. Un constructo de ácido nucleico multicistrónico puede codificar para 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más, o en el intervalo de 2-5, 5-10 o 10-20 genes/secuencias de nucleótidos. Por ejemplo, un constructo de ácido nucleico bicistrónico puede comprender en el siguiente orden un promotor, un primer gen y un segundo gen. En un constructo de ácido nucleico de este tipo, la transcripción de ambos genes está dirigida por el promotor, mientras que la traducción del ARNm del primer gen es mediante un mecanismo de barrido dependiente de cap y la traducción del ARNm del segundo gen es mediante un mecanismo independiente de cap, por ejemplo, mediante un IRES.

Las técnicas para poner en práctica los aspectos de esta invención dependerán, a menos que se indique lo contrario, de técnicas convencionales de biología molecular, microbiología y manipulación y producción de ADN recombinante, que un experto en la técnica pone en práctica de manera rutinaria. Véanse, por ejemplo, Sambrook, 1989, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, segunda edición; DNA Cloning, volúmenes I y II (Glover, Ed. 1985); Oligonucleotide Synthesis (Gait, Ed. 1984); Nucleic Acid Hybridización (Hamel & Higgins, Eds. 1984); Transcription and Translation (Hanes & Higgins, Eds. 1984); Animal Cell Culture (Freshney, Ed. 1986); Immobilized Cells and Enzymes (IRL Press, 1986); Perbal, A Practical Guide to Molecular Cloning (1984); Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (Miller & Calos, eds. 1987, Cold Spring Harbor Laboratory); Methods in Enzymology, volúmenes 154 y 155 (Wu & Grossman, y Wu, eds., respectivamente), (Mayer & Walquer, eds., 1987); Immunochemical Methods in Cell and Molecular Biology (Academic Press, London, Scopes, 1987), Expression of Proteins in Mammalian Cells Using Vaccinia Viral Vectors in Current Protocols in Molecular Biology, volumen 2 (Ausubel *et al.*, Eds., 1991).

Los constructos de ácido nucleico que comprenden ácidos nucleicos que codifican para una proteína pueden administrarse *in vivo* a un mamífero o transfectarse en células primarias o inmortalizadas en cultivo. En determinados aspectos, los constructos de ácido nucleico que comprenden ácidos nucleicos que codifican para una proteína se administran a un mamífero para la expresión recombinante de una proteína *in vivo*. En otros aspectos, las células transfectadas con los constructos de ácido nucleico *ex vivo* se trasplantan o se implantan en un sujeto.

Por tanto, en determinadas realizaciones, un constructo de ácido nucleico es un agente terapéutico. En otras realizaciones, las células trasplantadas con un constructo de ácido nucleico son el agente terapéutico.

5 En otro aspecto, los ácidos nucleicos que codifican para una proteína pueden usarse para generar células de mamífero que expresan de manera recombinante una proteína en altas cantidades para el aislamiento y la purificación. La producción y purificación de proteína recombinante se conocen bien en la técnica, por ejemplo, véase la publicación internacional n.º WO 07/070488, que se incorpora como referencia en el presente documento en su totalidad. En resumen, el polipéptido puede producirse de manera intracelular, en el espacio periplásmico o secretarse directamente al medio. El sobrenadante o lisado celular que comprende el polipéptido puede purificarse  
10 usando, por ejemplo, cromatografía de hidroxapatita, electroforesis en gel, diálisis y cromatografía de afinidad. También están disponibles otras técnicas para la purificación de proteínas tales como fraccionamiento en una columna de intercambio iónico, precipitación con etanol, HPLC de fase inversa, cromatografía sobre sílice, cromatografía sobre heparina SEPHAROSE™ (sustancia de filtración en gel; Pharmacia Inc., Piscataway, Nueva Jersey), cromatografía en una resina de intercambio aniónico o catiónico (tal como una columna de poli(ácido aspártico)), cromatoenfoque, SDS-PAGE y precipitación con sulfato de amonio.

### 5.2.5 Células

20 Las células pueden modificarse mediante ingeniería genética para que expresen la(s) proteína(s) codificada(s) por los ácidos nucleicos y constructos de ácido nucleico descritos en la sección 5.2.4, anteriormente (por ejemplo, sección 5.2.4.4, anteriormente). En una realización, tales células expresan cantidades de proteína que son al menos 1 vez, 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces o más de 50 veces mayores que las cantidades de proteína expresadas endógenamente por células de control (por ejemplo, células que no se han modificado por ingeniería genética para expresar de manera  
25 recombinante proteína, o células que comprenden un vector vacío). Además, las células pueden modificarse mediante ingeniería genética para que expresen los anticuerpos descritos en las secciones 5.1 y 5.2.1 anteriormente, usando técnicas bien conocidas por un experto en la técnica, véanse, por ejemplo, las patentes estadounidenses n.ºs 5.807.715, 6.331.415 y 6.818.216; las publicaciones de solicitud de patente estadounidense n.ºs US 2002/0098189, US 2004/0028685, US 2005/0019330 y US 2007/0086943; la publicación internacional n.º WO 02/46237; y Harlow *et al.*, *Antibodies. A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2ª ed. 1988); Hammerling, *et al.*, en: *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981) (dichas referencias se incorporan como referencia en el presente documento en su totalidad). Las células elegidas para la expresión de ácidos nucleicos dependerán del uso previsto de las células. Pueden considerarse factores tales como si una célula glicosila de manera similar a células que expresan endógenamente una proteína para seleccionar las  
35 células.

Los ejemplos no limitativos de células que pueden usarse para expresar la(s) proteína(s) codificadas por los constructos de ácido nucleico descritos en la sección 5.2.4.4, anteriormente, o los anticuerpos descritos en las secciones 5.1 y 5.2.1, anteriormente, incluyen células de mamífero, células de animales distintos de mamífero,  
40 células bacterianas, células fúngicas, células de levadura, células primarias, células inmortalizadas, células vegetales y células de insecto. En una realización específica, las células son una línea celular de mamífero. Los ejemplos de líneas celulares de mamífero incluyen, pero no se limitan a, células COS, CHO, HeLa, NIH3T3, HepG2, MCF7, HEK, 293T, RD, PC12, hibridomas, células pre-B, 293, 293H, K562, SkBr3, BT474, A204, M07Sb, Raji, Jurkat, MOLT-4, CTLL-2, MC-IXC, SK-N-MC, SK-N-MC, SK-N-DZ, SHSY5Y, C127, N0 y BE(2)-C. En la técnica se conocen otras  
45 líneas celulares de mamífero disponibles como huéspedes para la expresión e incluyen muchas líneas celulares inmortalizadas disponibles de la Colección americana de cultivos tipo (ATCC). En otra realización, las células son líneas celulares inmortalizadas derivadas de un sujeto. En otra realización, las células son células primarias o secundarias de un sujeto. En una realización particular, las células son células cancerosas. En otra realización, las células son células fetales/embrionarias. En algunas realizaciones, las células son células progenitoras. En algunas  
50 realizaciones, las células son linfocitos (por ejemplo, células T y células B). En otra realización, las células son células madre. En aún otra realización, las células modificadas mediante ingeniería genética para expresar los constructos de ácido nucleico de la sección 5.2.4.4, anteriormente, son de un adulto.

55 En una realización específica, la referencia a una célula transfectada con ácidos nucleicos incluye la célula objeto particular transfectada con los ácidos nucleicos y la progenie o posible progenie de un célula de este tipo. La progenie de una célula de este tipo puede no ser idéntica a la célula original transfectada con la molécula de ácido nucleico debido a mutaciones o influencias ambientales que pueden producirse en generaciones sucesivas o la integración de la molécula de ácido nucleico en el genoma celular.

60 En algunas realizaciones, se utilizan células aisladas en el presente documento. En una realización específica, las células aisladas están al menos el 80%, el 90%, el 95% o el 98% libres de un tipo de célula diferente tal como se mide mediante una técnica conocida por un experto en la técnica, tal como citometría de flujo. En otras palabras, al menos el 80%, el 90%, el 95% o el 98% de las células aisladas son del mismo tipo celular.

65 Puede usarse cualquier técnica conocida por un experto en la técnica para transfectar o transducir células con ácidos nucleicos incluyendo, por ejemplo, transformación, transfección, conjugación, fusión de protoplastos,

electroporación, precipitación con fosfato de calcio, microinyección directa e infección con virus, incluyendo pero sin limitarse a adenovirus, lentivirus y retrovirus. En una realización, las células se transfectan de manera transitoria con ácidos nucleicos. En otra realización, las células se transfectan de manera estable con ácidos nucleicos.

5 Para la producción de alto rendimiento a largo plazo de una proteína recombinante, pueden generarse líneas celulares estables. Por ejemplo, pueden transformarse líneas celulares usando los constructos de ácido nucleico de la sección 5.2.4.4 que pueden contener un gen marcador seleccionable en los mismos o en un constructo de ácido nucleico diferente. El gen marcador seleccionable puede introducirse en la misma célula mediante cotransfección. Tras la introducción del vector, se permite que las células crezcan durante 1-2 días en medios enriquecidos antes de  
10 cambiarlas a medios selectivos para permitir el crecimiento y la recuperación de células que expresan satisfactoriamente los ácidos nucleicos introducidos. Pueden proliferar clones resistentes de células transformadas de manera estable usando técnicas de cultivo tisular bien conocidas en la técnica que son adecuadas para el tipo celular. En una realización particular, la línea celular se ha adaptado para crecer en medio libre de suero. En una realización, la línea celular se ha adaptado para crecer en medio libre de suero en matraces agitadores. En una  
15 realización, la línea celular se ha adaptado para crecer en matraces de agitación o rotación. En determinadas realizaciones, la línea celular se cultiva en suspensión.

En una realización específica, un método particularmente preferido de producción de alto rendimiento de un polipéptido recombinante de la presente invención es a través del uso de amplificación de dihidrofolato reductasa (DHFR) en células CHO deficientes en DHFR, mediante el uso de niveles sucesivamente crecientes de metotrexato tal como se describe en la patente estadounidense n.º 4.889.803, que se incorpora como referencia en el presente documento en su totalidad. El polipéptido obtenido de tales células puede estar en una forma glicosilada.

En una realización específica, los constructos de ácido nucleico son adecuados para la introducción y la expresión en células primarias aisladas de un sujeto. Las células primarias se modifican mediante ingeniería genética para expresar una proteína. En una realización específica, las células primarias aisladas de un sujeto se modifican mediante ingeniería genética adicionalmente para expresar de manera recombinante otro polipéptido terapéutico, por ejemplo, una citocina (por ejemplo, IL-1, IL-2, IL-6, IL-11, IL-12, I-13, TNF-alfa, GM-CSF, interferón- $\alpha$ , interferón- $\beta$  o interferón- $\gamma$ ), CD3, un factor de crecimiento o un fragmento o derivado del mismo. En una realización específica,  
25 las células primarias aisladas de un sujeto se modifican mediante ingeniería genética adicionalmente para expresar de manera recombinante un antígeno de un cáncer.

En determinadas realizaciones, se usan células modificadas mediante ingeniería genética para expresar una proteína como un agente terapéutico y se implantan o se trasplantan en un sujeto para prevenir, tratar o gestionar una enfermedad.  
35

#### 5.2.6 Compuestos

En otro aspecto, un agente terapéutico es un compuesto (por ejemplo, una molécula pequeña). En algunas realizaciones, un agente terapéutico es un compuesto que modula la interacción entre B7-H7 y uno o más de sus receptores (por ejemplo, B7-H7CR). En determinadas realizaciones, un agente terapéutico es un compuesto que modula la interacción entre B7-H7CR y uno o más de sus ligandos (por ejemplo, B7-H7). En algunas realizaciones, un agente terapéutico es un compuesto que modula la interacción entre B7-H7 y B7-H7CR. En otras realizaciones, un agente terapéutico es un compuesto que modula la expresión de B7-H7 o B7-H7CR. En realizaciones específicas, un agente terapéutico es un agente terapéutico inmunoestimulante. En otras realizaciones específicas, un agente terapéutico es un agente terapéutico inhibidor. Los ejemplos de compuestos incluyen, pero no se limitan a, péptidos; proteínas; peptoides; biooligómeros aleatorios; diversómeros tales como hidantoínas, benzodiazepinas, dipéptidos; polipéptidos vinílogos; peptidomiméticos no peptídicos; oligocarbamatos; peptidilfosfonatos; ácidos nucleicos (por ejemplo, iARN, antisentido y microARN); anticuerpos; e hidratos de carbono. En una realización específica, un agente terapéutico es una molécula pequeña.  
40  
45  
50

En determinadas realizaciones, un agente terapéutico es una molécula de ácido nucleico antisentido que inhibe o reduce la expresión de B7-H7 o B7-H7CR. Una molécula antisentido puede unirse mediante hidrógeno a un ácido nucleico sentido. El ácido nucleico antisentido puede ser complementario a toda una hebra codificante, o a sólo un fragmento de la misma, por ejemplo, toda o parte de la región codificante de proteínas (o marco de lectura abierto). Una molécula de ácido nucleico antisentido puede ser antisentido con respecto a toda o parte de una región no codificante de la hebra codificante de una secuencia de nucleótidos que codifica para una proteína. Las regiones no codificantes ("regiones no traducidas en 5' y 3'") son las secuencias en 5' y 3' que flanquean la región codificante y no se traducen en aminoácidos.  
55  
60

Una molécula de ácido nucleico antisentido puede ser, por ejemplo, de aproximadamente 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 ó 50, o de 5 a 25, de 5 a 50, de 10 a 25, de 10 a 50, de 15 a 25, de 15 a 50, de 20 a 30, de 20 a 40, de 20 a 50, de 25 a 40 o de 25 a 50 nucleótidos o más de longitud. Una molécula de ácido nucleico antisentido puede construirse usando reacciones de síntesis química y ligación enzimática usando procedimientos conocidos en la técnica. Por ejemplo, un ácido nucleico antisentido (por ejemplo, un oligonucleótido antisentido) puede sintetizarse químicamente usando nucleótidos que se producen de manera natural o nucleótidos modificados de manera diversa  
65

diseñados para aumentar la estabilidad biológica de las moléculas o para aumentar la estabilidad física del dúplex formado entre los ácidos nucleicos antisentido y sentido, por ejemplo, pueden usarse derivados de fosforotioato y nucleótidos sustituidos con acridina. Los ejemplos de nucleótidos modificados que pueden usarse para generar la molécula de ácido nucleico antisentido incluyen 5-fluorouracilo, 5-bromouracilo, 5-clorouracilo, 5-yodouracilo, hipoxantina, xantina, 4-acetilcitosina, 5-(carboxihidroxi)metiluracilo, 5-carboximetilaminometil-2-tiouridina, 5-carboximetilaminometiluracilo, dihidouracilo, beta-D-galactosilqueosina, inosina, N6-isopenteniladenina, 1-metilguanina, 1-metilinosina, 2,2-dimetilguanina, 2-metiladenina, 2-metilguanina, 3-metilcitosina, 5-metilcitosina, N6-adenina, 7-metilguanina, 5-metilaminometiluracilo, 5-metoxiaminometil-2-tiouracilo, beta-D-manosilqueosina, 5'-metoxycarboximetiluracilo, 5-metoxiuracilo, 2-metil-N6-isopenteniladenina, ácido uracil-5-oxiacético (v), wibutososina, pseudouracilo, queosina, 2-tiocitosina, 5-metil-2-tiouracilo, 2-tiouracilo, 4-tiouracilo, 5-metiluracilo, éster metílico de ácido uracil-5-oxiacético, ácido uracil-5-oxiacético (v), 5-metil-2-tiouracilo, 3-(3-amino-3-N-2-carboxipropil)uracilo, (acp3)w y 2,6-diaminopurina. Alternativamente, el ácido nucleico antisentido puede producirse biológicamente usando un vector de expresión en el que un ácido nucleico se ha subclonado en una orientación antisentido (es decir, el ARN transcrito del ácido nucleico insertado estará en una orientación antisentido con respecto a un ácido nucleico de interés diana, descrito adicionalmente en la siguiente subsección). Los expertos en la técnica conocen técnicas para generar moléculas de ácido nucleico antisentido.

En algunas realizaciones, un agente terapéutico es una ribozima que es específica para los ácidos nucleicos de B7-H7 o B7-H7CR. Las ribozimas son moléculas de ARN catalíticas con actividad ribonucleasa que pueden escindir un ácido nucleico monocatenario, tal como un ARNm, con el que tienen una región complementaria. Por tanto, pueden usarse ribozimas (por ejemplo, ribozimas en cabeza de martillo (descritas en Haselhoff y Gerlach (1988) *Nature* 334:585-591)) para escindir catalíticamente transcritos de ARNm para inhibir de ese modo la traducción de la proteína codificada por el ARNm. Puede diseñarse una ribozima que tiene especificidad por una molécula de ácido nucleico que codifica para un polipéptido basándose en la secuencia de nucleótidos de un ADNc dado a conocer en el presente documento. Por ejemplo, puede construirse un derivado de un ARN de IVS L-19 de *Tetrahymena* en el que la secuencia de nucleótidos del sitio activo es complementaria a la secuencia de nucleótidos que va a escindirse en Cech *et al.*, patente estadounidense n.º 4.987.071; y Cech *et al.*, patente estadounidense n.º 5.116.742. Alternativamente, puede usarse un ARNm que codifica para un polipéptido para seleccionar un ARN catalítico que tiene una actividad ribonucleasa específica de un conjunto de moléculas de ARN. Véase, por ejemplo, Bartel y Szostak (1993) *Science* 261:1411-1418.

En algunas realizaciones, un agente terapéutico es un ARN de interferencia pequeño (ARNip) que inhibe o reduce la expresión de B7-H7 o B7-H7CR. En la técnica se conocen técnicas para generar y usar ARNip. Véanse, por ejemplo, las patentes estadounidenses n.ºs 7.651.541, 7.608.707 y 7.056.704; Lopez-Fraga *et al.*, 2009, *BioDrugs* 23(5): 305-332; Hajeri *et al.*, 2009, *Drug Discov Today* 14(17-18):851-8; y Tilesi *et al.*, 2009, *Curr Opin Mol Ther.* 11(2): 156-64 para información respecto a ARNip.

En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en esta sección 5.3.1 y siguientes están conjugados o fusionados de manera recombinante con un agente de diagnóstico, detectable o terapéutico o cualquier otra molécula. Véase la sección 5.1.2 para una descripción de conjugados de anticuerpo. Las realizaciones descritas en las secciones 5.1.1 y 5.1.2 pueden aplicarse también a los anticuerpos descritos en esta sección.

#### 5.3.4.5 Ácidos nucleicos que codifican para anticuerpos

En un aspecto, un agente terapéutico es una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo descrito en la sección 5.3.1, anteriormente (incluyendo conjugado de anticuerpo o proteínas de fusión). En algunas realizaciones, los anticuerpos codificados por las secuencias de ácido nucleico son agentes terapéuticos inmunoestimulantes. En otras realizaciones, los anticuerpos codificados por las secuencias de ácido nucleico son agentes terapéuticos inhibidores.

#### 5.3.4.6 Constructos y expresión recombinante

Los ácidos nucleicos que codifican para una proteína pueden insertarse en constructos de ácido nucleico para la expresión en células de mamífero, bacterias, levadura y virus. Véase la sección 5.2.4.4 con respecto a información relacionada con constructos para la expresión de ácidos nucleicos. Las realizaciones descritas en esa sección también pueden aplicarse en este caso.

#### 5.3.5 Células

Pueden modificarse mediante ingeniería genética células para expresar la(s) proteína(s) codificada(s) por los constructos de ácido nucleico descritos en la sección 5.2.5, anteriormente. En una realización, tales células expresan cantidades de proteína que son al menos 1 vez, 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces o más de 50 veces mayores que las cantidades de proteína expresadas de manera endógena por células de control (por ejemplo, células que no se han modificado mediante ingeniería genética para expresar de manera recombinante proteína, o células que comprenden un vector vacío). Además, las células pueden modificarse mediante ingeniería genética para expresar los anticuerpos

descritos en la sección 5.3.1 y siguientes, anteriormente, usando técnicas bien conocidas por un experto en la técnica, véanse, por ejemplo, las patentes estadounidenses n.ºs 5.807.715, 6.331.415 y 6.818.216; las publicaciones de solicitud de patente estadounidense n.ºs US 2002/0098189, US 2004/0028685, US 2005/0019330 y US 2007/0086943; la publicación internacional n.º WO 02/46237; y Harlow *et al.*, *Antibodies. A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2ª ed. 1988); Hammerling, *et al.*, en: *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981) (dichas referencias se incorporan como referencia en el presente documento en su totalidad). Las células elegidas para la expresión de ácidos nucleicos dependerán del uso previsto de las células. Pueden considerarse factores tales como si una célula glicosila de manera similar a células que expresan de manera endógena una proteína para seleccionar las células. Véase la sección 5.2.5 anterior para información con respecto a células modificadas mediante ingeniería genética para expresar de manera recombinante una proteína. Las realizaciones descritas en esa sección también pueden aplicarse en este caso.

#### 5.4 COMPOSICIONES

Se presentan en el presente documento composiciones que comprenden uno o más agentes terapéuticos, incluyendo agentes terapéuticos inmunoestimulantes y agentes terapéuticos inhibidores. Las composiciones incluyen composiciones de fármaco a granel útiles en la fabricación de composiciones (por ejemplo, composiciones impuras o no estériles) y composiciones farmacéuticas (es decir, composiciones que son adecuadas para su administración a un sujeto o paciente) que pueden usarse en la preparación de formas de dosificación unitarias. Las composiciones comprenden una cantidad eficaz de un agente terapéutico o una combinación de agentes terapéuticos y un portador farmacéuticamente aceptable. En realizaciones específicas, las composiciones comprenden una cantidad eficaz de uno o más agentes terapéuticos y un portador farmacéuticamente aceptable. En realizaciones específicas, una composición farmacéutica comprende una cantidad de un agente terapéutico que es eficaz para lograr el efecto deseado (por ejemplo, modulación de la proliferación de linfocitos T, modulación de la función inmunitaria, o prevención, tratamiento o gestión de una enfermedad). En algunas realizaciones, la composición comprende además una terapia/agente terapéutico adicional, por ejemplo, agente anticancerígeno, agente antiviral, agente antiinflamatorio, adyuvante. Los ejemplos no limitativos de tales terapias/agentes terapéuticos se proporcionan en la sección 5.7 y siguientes, a continuación.

En una realización específica, el término “farmacéuticamente aceptable” significa aprobado por una autoridad reguladora del gobierno federal o estatal o enumerado en la farmacopea estadounidense u otra farmacopea generalmente aceptada para su uso en animales, y más particularmente en seres humanos. El término “portador” se refiere a un diluyente, adyuvante (por ejemplo, adyuvante de Freund (completo e incompleto) o, más preferiblemente, adyuvante MF59C.1 disponible de Chiron, Emeryville, CA), excipiente o vehículo con el que se administra el agente terapéutico. Tales portadores farmacéuticos pueden ser líquidos estériles, tales como agua y aceites, incluyendo los de origen de petróleo, animal, vegetal o sintético, tal como aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo y similares. En una realización, el agua es un portador cuando la composición farmacéutica se administra por vía intravenosa. También pueden emplearse soluciones salinas y disoluciones de glicerol y dextrosa acuosas como portadores líquidos, particularmente para disoluciones inyectables. Los excipientes farmacéuticos adecuados incluyen almidón, glucosa, lactosa, sacarosa, gelatina, malta, arroz, harina, caliza, gel de sílice, estearato de sodio, monoestearato de glicerol, talco, cloruro de sodio, leche desnatada en polvo, glicerol, propilenglicol, agua, etanol y similares. La composición, si se desea, también puede contener pequeñas cantidades de agentes humectantes o emulsionantes, o agentes de tamponamiento del pH. Estas composiciones pueden adoptar la forma de disoluciones, suspensiones, emulsión, comprimidos, píldoras, cápsulas, polvos, formulaciones de liberación sostenida, y similares.

Las composiciones farmacéuticas para su uso según los métodos descritos en el presente documento pueden formularse de cualquier manera convencional usando uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables.

Generalmente, los componentes de las composiciones farmacéuticas que comprenden agentes terapéuticos se proporciona o bien por separado o bien mezclados juntos en una forma de dosificación unitaria, por ejemplo, como un polvo seco liofilizado o concentrado libre de agua en un recipiente herméticamente sellado tal como una ampolla o sobre que indica la cantidad de agente activo. Cuando el agente terapéutico va a administrarse mediante infusión, puede dispensarse con un frasco de infusión que contiene solución salina o agua de calidad farmacéutica estéril (por ejemplo, PBS). Cuando el agente terapéutico se administra mediante inyección, puede proporcionarse una ampolla de agua estéril para inyección o solución salina de modo que los componentes pueden mezclarse antes de la administración.

En algunas realizaciones, los agentes terapéuticos pueden formularse para su administración mediante cualquier método conocido por un experto en la técnica, incluyendo pero sin limitarse a, inhalación, insuflación (a través de o bien la boca o bien la nariz), administración oral, intradérmica, transdérmica, intraparenteral, intravenosa, subcutánea, intramuscular, intratumoral y mucosa (tal como bucal, vaginal, rectal, sublingual).

En una realización específica, los agentes terapéuticos se formulan para administración parenteral local o sistémica. En una realización, los agentes terapéuticos se formulan en una disolución farmacéuticamente compatible.

Para la administración oral, las composiciones farmacéuticas que comprenden agentes terapéuticos que son polipéptidos o ácidos nucleicos pueden adoptar la forma de, por ejemplo, comprimidos o cápsulas preparados por medios convencionales con excipientes farmacéuticamente aceptables tales como agentes de unión (por ejemplo, almidón de maíz pregelatinizado, polivinilpirrolidona o hidroxipropilmetilcelulosa); cargas (por ejemplo, lactosa, celulosa microcristalina o hidrogenofosfato de calcio); lubricantes (por ejemplo, estearato de magnesio, talco o sílice); disgregantes (por ejemplo, almidón de patata o glicolato sódico de almidón); o agentes humectantes (por ejemplo, laurilsulfato de sodio). Los comprimidos pueden recubrirse mediante métodos bien conocidos en la técnica. Las preparaciones líquidas para administración oral pueden adoptar la forma de, por ejemplo, disoluciones, jarabes o suspensiones, o pueden presentarse como un producto seco para su constitución con agua u otro vehículo adecuado antes de su uso. Tales preparaciones líquidas pueden prepararse mediante medios convencionales con aditivos farmacéuticamente aceptables tales como agentes de suspensión (por ejemplo, jarabe de sorbitol, derivados de celulosa o grasas hidrogenadas comestibles); agentes emulsionantes (por ejemplo, lecitina o goma arábiga); vehículos no acuosos (por ejemplo, aceite de almendras, ésteres oleosos, alcohol etílico o aceites vegetales fraccionados); y conservantes (por ejemplo, metil o propil-p-hidroxibenzoatos o ácido sórbico). Las preparaciones también pueden contener sales de tampón, agentes aromatizantes, colorantes y edulcorantes según sea apropiado. Las preparaciones para administración oral pueden formularse de manera adecuada para dar una liberación controlada del agente terapéutico o composiciones del mismo. Para la administración bucal, las composiciones pueden adoptar la forma de comprimidos o pastillas para chupar formulados de manera convencional.

Para la administración mediante inhalación, los agentes terapéuticos se administran de manera conveniente en forma de una presentación de pulverizador de aerosol a partir de envases presurizados o un nebulizador, con el uso de un propelente adecuado, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación puede determinarse proporcionando una válvula para administrar una cantidad dosificada. Las cápsulas y los cartuchos de, por ejemplo, gelatina para su uso en un inhalador o insuflador pueden formularse para que contengan una mezcla de polvo del compuesto y una base de polvo adecuada tal como lactosa o almidón.

Los agentes terapéuticos pueden formularse para administración parenteral mediante inyección, por ejemplo, mediante inyección en bolo o infusión continua. Las formulaciones para inyección pueden presentarse en una forma de dosificación unitaria, por ejemplo, en ampollas o recipientes de múltiples dosis, con un conservante añadido. Las composiciones pueden adoptar formas tales como suspensiones, disoluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilización y/o dispersión. Alternativamente, el agente terapéutico puede estar en forma de polvo para su constitución con un vehículo adecuado, por ejemplo, agua estéril libre de pirógenos, antes de su uso.

Los agentes terapéuticos también pueden formularse en composiciones rectales tales como supositorios o enemas de retención, por ejemplo, que contienen bases de supositorio convencionales tales como manteca de cacao u otros glicéridos.

Además de las formulaciones descritas previamente, los agentes terapéuticos también pueden formularse para su implantación (por ejemplo, por vía subcutánea o intramuscular) o mediante inyección intramuscular.

En una realización específica, se conocen en la técnica la formulación y administración de diversos agentes terapéuticos quimioterápicos, biológicos/inmunoterápicos y hormonales para su uso en combinación con agentes terapéuticos y se describen en el Physician's Desk Reference, 63ª ed. (2009). En algunas realizaciones, los agentes terapéuticos se formulan con otras terapias, tales como las descritas en la sección 5.7 y siguientes, a continuación. En algunas realizaciones, los agentes terapéuticos que comprenden células que expresan de manera recombinante B7-H7, B7-H7CR, B7-H2, ICOS, CD28 o CTLA-4 se formulan como composiciones farmacéuticas.

## 5.5 USOS PROFILÁCTICOS Y TERAPÉUTICOS DE AGENTES TERAPÉUTICOS QUE POTENCIAN LA FUNCIÓN INMUNITARIA

### 5.5.1 Potenciación de la función inmunitaria

En un aspecto, se presentan en el presente documento métodos para potenciar una o más respuestas o funciones inmunitarias en un sujeto, que comprenden administrar a un sujeto que lo necesita un agente terapéutico inmunoestimulante o una composición del mismo. En una realización específica, se presentan en el presente documento métodos para prevenir, tratar y/o gestionar enfermedades en las que es deseable activar o potenciar una o más respuestas o funciones inmunitarias, que comprenden administrar a un sujeto que lo necesita un agente terapéutico inmunoestimulante o una composición del mismo. En otras realizaciones específicas, el método comprende terapia de combinación, en el que el agente terapéutico inmunoestimulante se administra a un sujeto en combinación con otra terapia, tal como las descritas a continuación, para activar o potenciar una o más respuestas o funciones inmunitarias. En determinadas realizaciones, el agente terapéutico inmunoestimulante se administra como un adyuvante en combinación con una composición antigénica. En una realización particular, el agente terapéutico inmunoestimulante se administra en combinación con una composición de vacuna para inducir o activar o potenciar

la respuesta inmunitaria provocada por la composición de vacuna.

Los ejemplos no limitativos de enfermedades que pueden prevenirse, tratarse o gestionarse mediante una potenciación de la función inmunitaria incluyen, pero no se limitan a, cáncer, enfermedades infecciosas, enfermedades caracterizadas por macrófagos infiltrantes o aterosclerosis. Se describen a continuación diversos cánceres y enfermedades infecciosas. En una realización específica, un agente terapéutico inmunoestimulante descrito en el presente documento puede usarse para tratar o gestionar un estado asociado con cáncer o un estado que resulta de la administración de una terapia anticancerígena (tal como, por ejemplo, quimioterapia o radiación). En una realización particular, puede usarse un agente terapéutico inmunoestimulante para tratar o gestionar linfocitopenia. En otra realización, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante a un paciente diagnosticado con cáncer para aumentar la proliferación y/o función efectora de una o más poblaciones de células inmunitarias en el paciente.

En una realización específica, un agente terapéutico inmunoestimulante activa o potencia o induce una o más respuestas o funciones inmunitarias en un sujeto en al menos el 99%, al menos el 95%, al menos el 90%, al menos el 85%, al menos el 80%, al menos el 75%, al menos el 70%, al menos el 60%, al menos el 50%, al menos el 45%, al menos el 40%, al menos el 35%, al menos el 30%, al menos el 25%, al menos el 20% o al menos el 10%, o en el intervalo de entre el 10% y el 25%, el 25% y el 50%, el 50% y el 75% o el 75% y el 95% en relación con la función inmunitaria en un sujeto al que no se le ha administrado el agente terapéutico inmunoestimulante usando ensayos bien conocidos en la técnica, por ejemplo, ensayos de ELISPOT, ELISA y de proliferación celular. En una realización específica, la función inmunitaria es liberación de citocinas (por ejemplo, interferón-gamma, IL-2, IL-5, IL-10, IL-12 o factor de crecimiento transformante (TGF) - beta). En una realización, la función inmunitaria es proliferación de células NK, que puede someterse a ensayo, por ejemplo, mediante citometría de flujo para detectar el número de células que expresan marcadores de células NK (por ejemplo, CD56). En una realización, la función inmunitaria es proliferación de células T, que puede someterse a ensayo, por ejemplo, mediante citometría de flujo para detectar el número de células que expresan marcadores de células T (por ejemplo, CD3, CD4 o CD8). En otra realización, la función inmunitaria es producción de anticuerpos, que puede someterse a ensayo, por ejemplo, mediante ELISA. En algunas realizaciones, la función inmunitaria es función efectora, que puede someterse a ensayo, por ejemplo, mediante un ensayo de citotoxicidad u otros ensayos bien conocidos en la técnica. En otra realización, la función inmunitaria es una respuesta Th1. En otra realización, la función inmunitaria es una respuesta Th2. En otra realización, la función inmunitaria es una respuesta Th17. En otra realización, la función inmunitaria es una respuesta Th22. En otra realización, la función inmunitaria es una respuesta de memoria.

En realizaciones específicas, los ejemplos no limitativos de funciones inmunitarias que pueden potenciarse mediante el agente terapéutico inmunoestimulante son proliferación/expansión de linfocitos (por ejemplo, aumento en el número de linfocitos), inhibición de la apoptosis de linfocitos, activación de células dendríticas (o células presentadoras de antígenos) y presentación de antígenos. En realizaciones particulares, una función inmunitaria potenciada por el agente terapéutico inmunoestimulante es proliferación/expansión en el número de o la activación de células T CD4<sup>+</sup> (por ejemplo, células T auxiliares Th1 y Th2), células T CD8<sup>+</sup> (por ejemplo, linfocitos T citotóxicos, células T alfa/beta y células T gamma/delta), células B (por ejemplo, células plasmáticas), células T de memoria, células B de memoria, células dendríticas (inmaduras o maduras), células presentadoras de antígenos, macrófagos, mastocitos, células T citolíticas naturales (células NKT), células T residentes en tumores, células T CD122<sup>+</sup> o células citolíticas naturales (células NK). En una realización, el agente terapéutico inmunoestimulante activa o potencia la proliferación/expansión o el número de progenitores de linfocitos. En determinadas realizaciones, el agente terapéutico inmunoestimulante reduce la proliferación/expansión de Treg. En algunas realizaciones, un agente terapéutico inmunoestimulante aumenta el número de células T CD4<sup>+</sup> (por ejemplo, células T auxiliares Th1 y Th2), células T CD8<sup>+</sup> (por ejemplo, linfocitos T citotóxicos, células T alfa/beta y células T gamma/delta), células B (por ejemplo, células plasmáticas), células T de memoria, células B de memoria, células dendríticas (inmaduras o maduras), células presentadoras de antígenos, macrófagos, mastocitos, células T citolíticas naturales (células NKT), células T residentes en tumores, células T CD122<sup>+</sup> o células citolíticas naturales (células NK) en aproximadamente al menos el 99%, al menos el 95%, al menos el 90%, al menos el 85%, al menos el 80%, al menos el 75%, al menos el 70%, al menos el 60%, al menos el 50%, al menos el 45%, al menos el 40%, al menos el 35%, al menos el 30%, al menos el 25%, al menos el 20% o al menos el 10%, o en el intervalo de entre el 10% y el 25%, el 25% y el 50%, el 50% y el 75% o el 75% y el 95% en relación con un control negativo (por ejemplo, número de las células respectivas no tratadas, cultivadas ni puestas en contacto con un agente terapéutico inmunoestimulante).

En determinadas realizaciones, se trata o se gestiona una enfermedad crónica (por ejemplo, infección con VIH o VHC, cáncer, etc.) administrando un agente terapéutico inmunoestimulante de este tipo.

En determinadas realizaciones, se trata o se gestiona una enfermedad aguda (por ejemplo, una infección aguda) administrando un agente terapéutico inmunoestimulante de este tipo.

#### 5.5.1.1 Cáncer

En un aspecto específico, se presentan en el presente documento métodos para prevenir, tratar y/o gestionar cáncer, que comprenden administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un agente terapéutico

inmunoestimulante o una composición del mismo. En una realización específica, un agente terapéutico inmunoestimulante o una composición del mismo es el único agente activo administrado a un sujeto (es decir, monoterapia).

5 El efecto de un agente terapéutico inmunoestimulante sobre la proliferación de células cancerosas puede detectarse mediante ensayos de rutina, tal como mediante ensayos que miden la captación de timidina radiomarcada. Alternativamente, la viabilidad celular puede medirse mediante ensayos que miden la lactato deshidrogenasa (LDH), una enzima citosólica estable que se libera tras la lisis celular, o mediante la liberación de [<sup>51</sup>Cr] tras la lisis celular. En una realización, la necrosis se mide mediante la capacidad o incapacidad de una célula para captar un colorante tal como rojo neutro, azul trípano o azul ALAMARTM (Page *et al.*, 1993, Intl. J. of Oncology 3:473 476). En un ensayo de este tipo, las células se incuban en medios que contienen el colorante, las células se lavan y el colorante restante, que refleja la captación celular del colorante, se mide espectrofotométricamente.

15 En otra realización, el colorante es sulforodamina B (SRB), cuya unión a proteínas puede usarse como una medida de la citotoxicidad (Skehan *et al.*, 1990, J. Nat'l Cancer Inst. 82:1107 12). En aún otra realización, se usa una sal de tetrazolio, tal como MTT, en un ensayo colorimétrico cuantitativo para la supervivencia y proliferación de células de mamífero detectando células vivas, pero no muertas (véase, por ejemplo, Mosmann, 1983, J. Immunol. Methods 65:55 63).

20 En otras realizaciones, se miden las células apoptóticas en los compartimentos tanto unido como "flotante" de los cultivos. Ambos compartimentos se recogen eliminando el sobrenadante, tripsinizando las células unidas y combinando ambas preparaciones tras una etapa de lavado por centrifugación (10 minutos, 2000 rpm). El protocolo para tratar cultivos de células tumorales con sulindaco y compuestos relacionados para obtener una cantidad significativa de apoptosis se ha descrito en la bibliografía (véase, por ejemplo, Piazza *et al.*, 1995, Cancer Research 55:3110 16). Las características de este método incluyen recoger tanto las células flotantes como las unidas, la identificación de los tiempos de tratamiento y el intervalo de dosis óptimos para observar apoptosis, y la identificación de condiciones de cultivo celular óptimas.

30 En otra realización, la apoptosis se cuantifica midiendo la fragmentación del ADN. Están disponibles métodos fotométricos comerciales para la determinación *in vitro* cuantitativa de la fragmentación del ADN. Ejemplos de tales ensayos, incluyendo ensayos basados en TUNEL (que detecta la incorporación de nucleótidos marcados en ADN fragmentado) y ELISA, se describen en Biochemica, 1999, n.º 2, págs. 34 37 (Roche Molecular Biochemicals). En aún otra realización, la apoptosis puede observarse morfológicamente.

35 Las líneas de células cancerosas sobre las que pueden realizarse tales ensayos las conocen bien los expertos en la técnica. También pueden realizarse ensayos de apoptosis, necrosis y proliferación sobre células primarias, por ejemplo, un explante tisular.

40 En una realización específica, la proliferación o viabilidad de células cancerosas puestas en contacto con un agente terapéutico inmunoestimulante o una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante se inhibe o se reduce en al menos 2 veces, preferiblemente al menos 2,5 veces, al menos 3 veces, al menos 4 veces, al menos 5 veces, al menos 7 veces o al menos 10 veces, o de 2 a 5 veces, de 2 a 10 veces, de 4 a 7 veces, de 4 a 10 veces o de 7 a 10 veces en relación con la proliferación de las células cancerosas cuando se ponen en contacto con un control negativo (por ejemplo, PBS) tal como se mide usando ensayos bien conocidos en la técnica, por ejemplo, ensayos de proliferación celular usando CSFE, BrdU e incorporación de <sup>3</sup>H-timidina. En otra realización, la proliferación de células cancerosas puestas en contacto con un agente terapéutico inmunoestimulante o una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante se inhibe o se reduce en al menos el 25%, al menos el 30%, al menos el 35%, al menos el 40%, al menos el 45%, al menos el 50%, al menos el 55%, al menos el 60%, al menos el 65%, al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90% o al menos el 95% o del 25% al 65%, del 40% al 65%, del 50% al 90%, del 65% al 90%, del 70% al 90%, del 75% al 95%, del 80% al 95% o del 85% al 99% en relación con células cancerosas puestas en contacto con un control negativo (por ejemplo, PBS) tal como se mide usando ensayos bien conocidos en la técnica, por ejemplo, ensayos de proliferación celular usando CSFE, BrdU e incorporación de <sup>3</sup>H-timidina, o los ensayos descritos anteriormente.

55 En realizaciones específicas, la administración de un agente terapéutico inmunoestimulante o una composición del mismo a un sujeto con cáncer (en algunas realizaciones, un modelo animal para cáncer) logra al menos uno, dos, tres, cuatro o más de los siguientes efectos: (i) la reducción o mejora de la gravedad de uno o más síntomas de cáncer; (ii) la reducción en la duración de uno o más síntomas asociados con cáncer; (iii) la prevención en la recaída de un síntoma asociado con cáncer; (iv) la reducción en la hospitalización de un sujeto; (v) una reducción en la duración de la hospitalización; (vi) el aumento en la supervivencia de un sujeto; (vii) la potenciación o mejora del efecto terapéutico de otra terapia; (viii) un aumento en la tasa de supervivencia de pacientes; (xiii) una disminución en la tasa de hospitalización; (ix) la prevención del desarrollo o la aparición de uno o más síntomas asociados con cáncer; (x) la reducción en el número de síntomas asociados con cáncer; (xi) un aumento en la supervivencia libre de síntomas de pacientes con cáncer; (xii) una mejora en la calidad de vida tal como se evalúa mediante métodos bien conocidos en la técnica; (xiii) la prevención de la recaída de un tumor; (xiv) la regresión de tumores y/o uno o más síntomas asociados con los mismos; (xvii) la inhibición de la evolución de tumores y/o uno o más síntomas

asociados con los mismos; (xviii) una reducción en el crecimiento de un tumor; (xix) una disminución en el tamaño tumoral (por ejemplo, volumen o diámetro); (xx) una reducción en la formación de un tumor recién formado; (xxi) erradicación, eliminación o control de tumores primarios, regionales y/o metastásicos; (xxii) una disminución en el número o el tamaño de las metástasis; (xxiii) una reducción en la mortalidad; (xxiv) un aumento en la tasa de supervivencia libre de tumor de los pacientes; (xxv) un aumento en la supervivencia libre de recidiva; (xxvi) un aumento en el número de pacientes en remisión; (xxvii) el tamaño del tumor se mantiene y no aumenta o aumenta menos que el aumento de un tumor tras la administración de una terapia convencional tal como se mide mediante métodos convencionales disponibles para un experto en la técnica, tales como obtención de imágenes por resonancia magnética (MRI), MRI de contraste potenciado dinámica (DCE-MRI), rayos X y exploración por tomografía computarizada (CT), o una exploración por tomografía por emisión de positrones (PET); y/o (xxviii) un aumento en la duración de la remisión en los pacientes.

En una realización específica, la administración de un agente terapéutico inmunoestimulante o una composición del mismo a un sujeto con cáncer (en algunas realizaciones, un modelo animal para cáncer) inhibe o reduce el crecimiento de un tumor en al menos 2 veces, preferiblemente al menos 2,5 veces, al menos 3 veces, al menos 4 veces, al menos 5 veces, al menos 7 veces o al menos 10 veces, o de 2 a 5 veces, de 2 a 10 veces, de 4 a 7 veces, de 4 a 10 veces o de 7 a 10 veces en relación con el crecimiento de un tumor en un sujeto con cáncer (en algunas realizaciones, en el mismo modelo animal para cáncer) al que se le ha administrado un control negativo (por ejemplo, PBS) tal como se mide usando ensayos bien conocidos en la técnica. En otra realización, la administración de un agente terapéutico inmunoestimulante o una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante a un sujeto con cáncer (en algunas realizaciones, un modelo animal para cáncer) inhibe o reduce el crecimiento de un tumor en al menos el 25%, al menos el 30%, al menos el 35%, al menos el 40%, al menos el 45%, al menos el 50%, al menos el 55%, al menos el 60%, al menos el 65%, al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90% o al menos el 95%, o del 25% al 65%, del 40% al 65%, del 50% al 90%, del 65% al 90%, del 70% al 90%, del 75% al 95%, del 80% al 95% o del 85% al 99% en relación con el crecimiento de un tumor en un sujeto con cáncer (en algunas realizaciones, en el mismo modelo animal para cáncer) al que se le ha administrado un control negativo (por ejemplo, PBS) tal como se mide usando ensayos bien conocidos en la técnica.

En una realización específica, la administración de un agente terapéutico inmunoestimulante o una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante a un sujeto con cáncer (en algunas realizaciones, un modelo animal para cáncer) reduce el tamaño de un tumor en al menos 2 veces, preferiblemente al menos 2,5 veces, al menos 3 veces, al menos 4 veces, al menos 5 veces, al menos 7 veces o al menos 10 veces, o de 2 a 5 veces, de 2 a 10 veces, de 4 a 7 veces, de 4 a 10 veces o de 7 a 10 veces en relación con el crecimiento de un tumor en un sujeto con cáncer (en algunas realizaciones, el mismo modelo animal para cáncer) al que se le ha administrado un control negativo (por ejemplo, PBS) tal como se mide usando ensayos bien conocidos en la técnica. En otra realización, la administración de un agente terapéutico inmunoestimulante o una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante a un sujeto con cáncer (en algunas realizaciones, un modelo animal para cáncer) reduce el tamaño de un tumor en al menos el 10%, al menos el 25%, al menos el 30%, al menos el 35%, al menos el 40%, al menos el 45%, al menos el 50%, al menos el 55%, al menos el 60%, al menos el 65%, al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90% o al menos el 95%, o del 10% al 25%, del 25% al 50%, del 25% al 75%, del 50% al 75%, del 75% al 95%, del 75% al 100% en relación con el crecimiento de un tumor en un sujeto con cáncer (en algunas realizaciones, el mismo modelo animal para cáncer) al que se le ha administrado un control negativo (por ejemplo, PBS) tal como se mide usando ensayos bien conocidos en la técnica.

En determinadas realizaciones, se administran dos o más agentes terapéuticos inmunoestimulantes diferentes a un sujeto. En algunas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante a un sujeto en combinación con una o más de otras terapias, por ejemplo, agentes anticancerígenos, citocinas, vacunas celulares o agentes antihormonales, para tratar y/o gestionar cáncer. Se proporcionan ejemplos no limitativos de otras terapias en la sección 5.7 y siguientes, más adelante. En una realización, la combinación de un agente terapéutico inmunoestimulante y una o más de otras terapias proporciona un efecto terapéutico aditivo en relación con los efectos terapéuticos del agente terapéutico inmunoestimulante solo o la una o más de otras terapias. En una realización, la combinación de un agente terapéutico inmunoestimulante y una o más de otras terapias proporciona más de un efecto terapéutico aditivo en relación con los efectos terapéuticos del agente terapéutico inmunoestimulante solo o la una o más de otras terapias solas. En una realización, la combinación de un agente terapéutico inmunoestimulante y una o más de otras terapias proporciona un efecto terapéutico sinérgico en relación con los efectos terapéuticos del agente terapéutico inmunoestimulante solo o la una o más de otras terapias solas.

En una realización específica, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante en combinación con radioterapia que comprende, por ejemplo, el uso de rayos x, rayos gamma y otras fuentes de radiación para destruir las células cancerosas. En realizaciones específicas, el tratamiento de radiación se administra como una radiación de haz externo o teleterapia en el que la radiación se dirige desde una fuente remota. En otras realizaciones, el tratamiento de radiación se administra como una terapia interna o braquiterapia en la que se coloca una fuente radiactiva dentro del cuerpo cerca de las células cancerosas o una masa tumoral. En un aspecto, el agente terapéutico inmunoestimulante puede activar o potenciar la función inmunitaria para la respuesta en un paciente con cáncer con un sistema inmunitario comprometido debido a una terapia anticancerígena. En otra realización, un

agente terapéutico inmunoestimulante se administra a un sujeto en combinación con quimioterapia. En una realización, un agente terapéutico inmunoestimulante puede usarse antes, durante o después de la radioterapia o quimioterapia. En otra realización, un agente terapéutico inmunoestimulante puede usarse antes, durante o después de la cirugía. En otra realización, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante a un sujeto en combinación con una o más de otras terapias que seleccionan como diana diferentes rutas inmunoestimulantes. En una realización, el agente terapéutico inmunoestimulante se administra a un sujeto en combinación con B7-DC-Ig (por ejemplo, Amp-224 (Amplimmune, Rockville, Maryland)), anti-PD-1, anti-B7-1, anti-B7-2 o anti-CTLA4 (Ipilimumab o Tremelimumab). En otra realización, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante a un sujeto en combinación con anti-CD28 agonista (TGN1412). En otra realización, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante a un sujeto en combinación con ciclofosfamida o un derivado de la misma. En una realización específica, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante a un sujeto en combinación con TGN1412 de dosis baja. En otra realización, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante a un sujeto en combinación con un agente anti-hormonal, un inhibidor de aromatasa, una ribozima, una vacuna, etc.

15 Ejemplos no limitativos de agentes anticancerígenos que pueden administrarse a un sujeto en combinación con un agente terapéutico inmunoestimulante son agentes antihormonales que actúan regulando o inhibiendo la acción de hormonas sobre tumores, tales como antiestrógenos y moduladores selectivos de receptores de estrógenos (SERM), incluyendo, por ejemplo, tamoxifeno (incluyendo tamoxifeno NOLVADEX®), raloxifeno, droloxifeno, 4-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, keoxifeno, LY117018, onapristona y toremifeno FARESTON; inhibidores de aromatasa que inhiben la enzima aromatasa, que regula la producción de estrógenos en las glándulas suprarrenales, tales como, por ejemplo, 4(5)-imidazoles, aminoglutetimidias, acetato de megestrol MEGASE®, exemestano AROMASIN®V, formestano, fadrozol, vorozol RIVISOR®, letrozol FEMARA® y anastrozol ARIMIDEX®D; y antiandrógenos tales como flutamida, nilutamida, bicalutamida, leuprolida y goserelina; así como troxacitabina (un análogo de citosina nucleosídico de 1,3-dioxolano); oligonucleótidos antisentido, particularmente los que inhiben la expresión de genes en rutas de señalización implicadas en la proliferación celular aberrante, tales como, por ejemplo, PKC-alfa, Raf y H-Ras; ribozimas tales como un inhibidor de la expresión de VEGF (por ejemplo, ribozima ANGIOZYME®) y un inhibidor de la expresión de HER2; vacunas tales como vacunas de terapia génica, por ejemplo, vacuna ALLOVECTIN®, vacuna LEUVECTIN® y vacuna VAXID®; rIL-2 PROLEUKIN®; inhibidor de topoisomerasa 1 LURTOTECAN®; rrmRH ABARELX®; vinorelbina y esperamicinas (véase la patente estadounidense n.º 4.675.187), y sales farmacéuticamente aceptables, ácidos o derivados de cualquiera de los anteriores. Otros agentes anticancerígenos incluyen ciclofosfamida. La ciclofosfamida (CTX, Cytoxan® o Neosar®) es un fármaco de oxazahosforina y los análogos incluyen ifosfamida (IFO, Ifex), perfosfamida, trofosfamida (trofosfamida; Ixoten), y sales farmacéuticamente aceptables, solvatos, profármacos y metabolitos de los mismos (solicitud de patente estadounidense 20070202077 que se incorpora en su totalidad). La ifosfamida (MITOXANA®) es un análogo estructural de la ciclofosfamida y su mecanismo de acción se considera que es idéntico o sustancialmente similar al de la ciclofosfamida. La perfosfamida (4-hidroperoxiciclofosfamida) y trofosfamida son también agentes alquilantes, que están estructuralmente relacionados con la ciclofosfamida. Por ejemplo, la perfosfamida alquila el ADN, inhibiendo de ese modo la replicación del ADN y la síntesis de ARN y proteínas. Se han diseñado y evaluado nuevos derivados de oxazafosforinas en un intento de mejorar la selectividad y respuesta con toxicidad reducida para el huésped (Liang J, Huang M, Duan W, Yu XQ, Zhou S. Design of new oxazafosforine anticancer drugs. *Curr Pharm Des.* 2007; 13(9):963-78. Revisión). Estos incluyen mafosfamida (NSC 345842), glufosfamida (D19575, mostaza de beta-D-glucosilifosforamida), S-(-)-bromofosfamida (CBM-11), NSC 612567 (aldofosfamida perhidrotiazina) y NSC 613060 (aldofosfamida tiazolidina). La mafosfamida es un análogo de oxazafosforina que es una sal de ácido 4-tioetanansulfónico químicamente estable de 4-hidroxi-CPA. La glufosfamida es un derivado de IFO en el que la mostaza de isofosforamida, el metabolito alquilante de IFO, está unida glicosídicamente a una molécula de beta-D-glucosa. Se describen análogos de ciclofosfamida adicionales en la patente estadounidense 5.190.929 titulada "Cyclophosphamide analogs useful as anti-tumor agents" que se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad. En otras realizaciones, el agente anticancerígeno reduce la actividad y/o el número de linfocitos T reguladores (T-regs), preferiblemente sunitinib (SUTENT®), anti-TGFβ o imatinib (GLEEVAC®). Los agentes anticancerígenos útiles también incluyen inhibidores de la mitosis, tales como paclitaxol, inhibidores de aromatasa (por ejemplo letrozol) e inhibidores de la angiogénesis (inhibidores de VEGF, por ejemplo Avastin, VEGF-Trap) (véase, por ejemplo, Li *et al.*, Vascular endothelial growth factor blockade reduces intratumoral regulatory cells T and enhances the efficacy of a GM-CSF-secreting cancer immunotherapy. *Clin Cancer Res.* 15 de noviembre de 2006; 12(22):6808-16.), antraciclinas, oxaliplatino, doxorubicina, antagonistas de TLR4 y antagonistas de IL-18.

#### 5.5.1.1.1 Tipos de cánceres

Los cánceres y trastornos relacionados que pueden prevenirse, tratarse o gestionarse según los métodos descritos en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: leucemias incluyendo, pero sin limitarse a, leucemia aguda, leucemia linfocítica aguda, leucemias mielocíticas agudas tales como leucemia mieloblástica, promielocítica, mielocítica, monocítica, eritroleucemia y síndrome mielodisplásico, leucemias crónicas tales como pero sin limitarse a, leucemia mielocítica crónica (granulocítica) y leucemia linfocítica crónica, tricoleucemia; policitemia vera; linfomas tales como pero sin limitarse a enfermedad de Hodgkin y enfermedad no Hodgkin; mielomas múltiples tales como pero sin limitarse a mieloma múltiple latente, mieloma no secretor, mieloma osteoesclerótico, leucemia de células plasmáticas, plasmacitoma solitario y plasmacitoma extramedular;

macroglobulinemia de Waldenström; gammopatía monoclonal de significación indeterminada; gammopatía monoclonal benigna; enfermedad de las cadenas pesadas; sarcoma de tejidos óseo y conjuntivo tal como pero sin limitarse a sarcoma óseo, osteosarcoma, condrosarcoma, sarcoma de Ewing, tumor de células gigantes maligno, fibrosarcoma de huesos, cordoma, sarcoma perióístico, sarcomas de tejidos blandos, angiosarcoma (hemangiosarcoma), fibrosarcoma, sarcoma de Kaposi, leiomiomasarcoma, liposarcoma, linfangiosarcoma, neurilemoma, rhabdomyosarcoma y sarcoma sinovial; tumores cerebrales incluyendo pero sin limitarse a, glioma, astrocitoma, glioma de tronco encefálico, ependimoma, oligodendroglioma, tumor no glial, neurinoma acústico, craneofaringioma, meduloblastoma, meningioma, pineocitoma, pineoblastoma y linfoma cerebral primario; cáncer de mama incluyendo, pero sin limitarse a, adenocarcinoma, carcinoma lobular (de células pequeñas), carcinoma intraductal, cáncer de mama medular, cáncer de mama mucinoso, cáncer de mama tubular, cáncer de mama papilar, enfermedad de Paget y cáncer de mama inflamatorio; cáncer suprarrenal, incluyendo pero sin limitarse a, feocromocitoma y carcinoma corticosuprarrenal; cáncer de tiroides tal como pero sin limitarse a cáncer de tiroides papilar o folicular, cáncer de tiroides medular y cáncer de tiroides anaplásico; cáncer pancreático, incluyendo pero sin limitarse a, insulinoma, gastrinoma, glucagonoma, vipoma, tumor secretor de somatostatina, y tumor carcinoide o insulinoma; cánceres hipofisarios incluyendo pero sin limitarse a, enfermedad de Cushing, tumor secretor de prolactina, acromegalia y diabetes insípida; cánceres de ojo incluyendo pero sin limitarse a, melanoma ocular tal como melanoma de iris, melanoma coroideo y melanoma de cuerpo ciliar, y retinoblastoma; cánceres vaginales, incluyendo pero sin limitarse a, carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma y melanoma; cáncer vulvar, incluyendo pero sin limitarse a, carcinoma de células escamosas, melanoma, adenocarcinoma, carcinoma de células basales, sarcoma y enfermedad de Paget; cánceres de cuello uterino incluyendo pero sin limitarse a, carcinoma de células escamosas y adenocarcinoma; cánceres uterinos incluyendo pero sin limitarse a, carcinoma endometrial y sarcoma uterino; cánceres de ovarios incluyendo pero sin limitarse a, carcinoma epitelial ovárico, tumor limítrofe, tumor de células germinales y tumor estromal; cánceres esofágicos incluyendo pero sin limitarse a, cáncer escamoso, adenocarcinoma, carcinoma quístico adenoide, carcinoma mucoepidermoide, carcinoma adenoescamoso, sarcoma, melanoma, plasmacitoma, carcinoma verrugoso y carcinoma de células en grano de avena (de células pequeñas); cánceres de estómago incluyendo pero sin limitarse a, adenocarcinoma, fungante (polipoide), ulcerante, que se propaga superficialmente, que se propaga de manera difusa, linfoma maligno, liposarcoma, fibrosarcoma y carcinosarcoma; cánceres de colon; cánceres rectales; cánceres de hígado incluyendo pero sin limitarse a carcinoma hepatocelular y hepatoblastoma; cánceres de vesícula biliar incluyendo pero sin limitarse a, adenocarcinoma; colangiocarcinomas incluyendo pero sin limitarse a, papilar, nodular y difuso; cánceres de pulmón incluyendo pero sin limitarse a, cáncer de pulmón de células no pequeñas, carcinoma de células escamosas (carcinoma epidermoide), adenocarcinoma, carcinoma de células grandes y cáncer de pulmón de células pequeñas; cánceres testiculares incluyendo pero sin limitarse a, tumor germinal, seminoma, anaplásico, espermatocítico, no seminoma, carcinoma embrionario, carcinoma por teratoma, coriocarcinoma (tumor de saco vitelino); cánceres de próstata incluyendo pero sin limitarse a, adenocarcinoma, leiomiomasarcoma y rhabdomyosarcoma; cánceres de pene; cánceres bucales incluyendo pero sin limitarse a, carcinoma de células escamosas; cánceres basales; cánceres de glándulas salivares incluyendo pero sin limitarse a, adenocarcinoma, carcinoma mucoepidermoide y carcinoma adenoide quístico; cánceres de faringe incluyendo pero sin limitarse a, cáncer de células escamosas y verrugoso; cánceres de piel incluyendo pero sin limitarse a, carcinoma de células basales, carcinoma de células escamosas y melanoma, y melanoma que se propaga superficialmente, melanoma nodular, melanoma maligno por léntigo, melanoma lentiginoso acral; cánceres de riñón incluyendo pero sin limitarse a, cáncer de células renales, cáncer renal, adenocarcinoma, hipernefroma, fibrosarcoma y cánceres de células de transición (pelvis renal y/o útero); tumor de Wilms; cánceres de vejiga incluyendo pero sin limitarse a, carcinoma de células de transición, cáncer de células escamosas, adenocarcinoma y carcinosarcoma. Además, los cánceres incluyen mixosarcoma, sarcoma osteogénico, endoteliosarcoma, linfangioendoteliosarcoma, mesotelioma, sinovioma, hemangioblastoma, carcinoma epitelial, cistoadenocarcinoma, carcinoma broncogénico, carcinoma de las glándulas sudoríparas, carcinoma de las glándulas sebáceas, carcinoma papilar y adenocarcinomas papilares (para una revisión de tales trastornos, véase Fishman *et al.*, 1985, Medicine, 2ª ed., J.B. Lippincott Co., Filadelfia y Murphy *et al.*, 1997, Informed Decisions: The Complete Book of Cancer Diagnosis, Treatment, and Recovery, Viking Penguin, Penguin Books EE.UU., Inc., Estados Unidos de América).

En una realización, el cáncer es benigno, por ejemplo, pólipos y lesiones benignas. En otras realizaciones, el cáncer es metastásico. Los agentes terapéuticos inmunoestimulantes pueden usarse en el tratamiento de estados premalignos así como malignos. Los estados premalignos incluyen hiperplasia, metaplasia y displasia. El tratamiento de estados malignos incluye el tratamiento de tumores primarios así como metastásicos. En una realización específica el cáncer es melanoma, cáncer de colon, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de cuello uterino, cáncer de hígado, cáncer testicular, cáncer de cerebro, cáncer pancreático o cáncer renal.

#### 5.5.1.1.2 Población de pacientes

En algunas realizaciones, se administran agentes terapéuticos inmunoestimulantes, composiciones que comprenden agentes terapéuticos inmunoestimulantes o terapias de combinación a un sujeto que padece o se le diagnostica cáncer. En otras realizaciones, se administran agentes terapéuticos inmunoestimulantes, composiciones que comprenden agentes terapéuticos inmunoestimulantes o terapias de combinación a un sujeto predispuesto o susceptible a desarrollar cáncer. En algunas realizaciones, se administran agentes terapéuticos inmunoestimulantes, composiciones que comprenden agentes terapéuticos inmunoestimulantes o terapias de combinación a un sujeto

que vive en una región en donde hay una alta tasa de recaída de cáncer. En una realización específica, el cáncer se caracteriza por un tumor premaligno o un tumor maligno.

5 En algunas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un mamífero. En determinadas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un mamífero que tiene de 0 a 6 meses de edad, de 6 a 12 meses de edad, de 1 a 5 años de edad, de 5 a 10 años de edad, de 10 a 15 años de edad, de 15 a 20 años de edad, de 20 a 25 años de edad, de 25 a 30 años de edad, de 30 a 35 años de edad, de 35 a 40 años de edad, de 40 a 45 años de edad, de 45 a 50 años de edad, de 50 a 55 años de edad, de 55 a 60 años de edad, de 60 a 65 años de edad, de 65 a 70 años de edad, de 70 a 75 años de edad, de 75 a 80 años de edad, de 80 a 85 años de edad, de 85 a 90 años de edad, de 90 a 95 años de edad o de 95 a 100 años de edad. En determinadas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a una mascota, por ejemplo, un perro o un gato. En determinadas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un animal de granja o ganado, por ejemplo, cerdos, vacas, caballos, pollos, etc.

20 En determinadas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un ser humano en riesgo de desarrollar cáncer. En determinadas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un ser humano con cáncer. En determinadas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un ser humano diagnosticado con cáncer. En determinadas realizaciones, el paciente es un ser humano de 0 a 6 meses de edad, de 6 a 12 meses de edad, de 1 a 5 años de edad, de 5 a 10 años de edad, de 5 a 12 años de edad, de 10 a 15 años de edad, de 15 a 20 años de edad, de 13 a 19 años de edad, de 20 a 25 años de edad, de 25 a 30 años de edad, de 30 a 35 años de edad, de 35 a 40 años de edad, de 40 a 45 años de edad, de 45 a 50 años de edad, de 50 a 55 años de edad, de 55 a 60 años de edad, de 60 a 65 años de edad, de 65 a 70 años de edad, de 70 a 75 años de edad, de 75 a 80 años de edad, de 80 a 85 años de edad, de 85 a 90 años de edad, de 90 a 95 años de edad o de 95 a 100 años de edad. En algunas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un lactante humano o un lactante humano prematuro. En otras realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un niño humano. En otras realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un adulto humano. En aún otras realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un anciano humano.

40 En determinadas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un primate, preferiblemente un ser humano, u otro mamífero, tal como un cerdo, vaca, caballo, oveja, cabra, perro, gato y roedor, en un estado inmunocomprometido o estado inmunosuprimido o en riesgo de llegar a estar inmunocomprometido o inmunosuprimido. En determinadas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un sujeto que recibe o se recupera de una terapia inmunosupresora. En determinadas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un sujeto que tiene o corre el riesgo de contraer SIDA, una infección viral o una infección bacteriana. En determinadas realizaciones, un sujeto que se somete, se someterá o se ha sometido a cirugía, quimioterapia y/o radioterapia. En algunas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un sujeto que vive en una residencia, un hogar grupal (es decir, un hogar para 10 o más sujetos) o una prisión.

55 En determinadas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un sujeto que tiene niveles de expresión anómalos de uno o más de los siguientes: B7-H2, ICOS, CD28 o CTLA-4. En algunas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un sujeto que tiene niveles de expresión anómalos de o bien B7-H7, B7-H7CR o bien ambos.

65 En algunas realizaciones, se le administra a un paciente un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación antes de que se desarrolle cualquier efecto adverso o intolerancia a terapias distintas de agentes terapéuticos inmunoestimulantes. En algunas realizaciones, se administran agentes terapéuticos inmunoestimulantes, composiciones que comprenden agentes terapéuticos inmunoestimulantes o terapias de combinación a pacientes resistentes. En una determinada

realización, un paciente resistente es un paciente resistente a una terapia anticancerígena convencional. En determinadas realizaciones, un paciente con cáncer es resistente a una terapia cuando el cáncer no se ha erradicado significativamente y/o los síntomas no se han aliviado significativamente. La determinación de si un paciente es resistente puede hacerse o bien *in vivo* o bien *in vitro* mediante cualquier método conocido en la técnica para someter a ensayo la eficacia de un tratamiento, usando los significados aceptados en la técnica de “resistente” en tal contexto. En diversas realizaciones, un paciente con cáncer es resistente cuando un tumor canceroso no ha disminuido o ha aumentado.

En algunas realizaciones, se administran agentes terapéuticos inmunoestimulantes, composiciones que comprenden agentes terapéuticos inmunoestimulantes o terapias de combinación a un paciente para prevenir la aparición o recaída de cáncer en un paciente en riesgo de desarrollar tal cáncer. En algunas realizaciones, se administran agentes terapéuticos inmunoestimulantes, composiciones que comprenden agentes terapéuticos inmunoestimulantes o terapias de combinación a un paciente que es susceptible a reacciones adversas a terapias convencionales.

En algunas realizaciones, se administran uno o más agentes terapéuticos inmunoestimulantes, composiciones que comprenden agentes terapéuticos inmunoestimulantes o terapias de combinación a un paciente que se ha comprobado que es resistente a terapias distintas de los agentes terapéuticos inmunoestimulantes, pero que ya no sigue estas terapias. En determinadas realizaciones, los pacientes que están gestionándose o tratándose según los métodos descritos en el presente documento son pacientes que ya están tratándose con antibióticos, agentes anticancerígenos u otra terapia biológica/inmunoterapia. Entre estos pacientes están pacientes resistentes, pacientes que son demasiado jóvenes para terapias convencionales y pacientes con infecciones virales recurrentes a pesar de la gestión o el tratamiento con terapias existentes.

En algunas realizaciones, el sujeto al que están administrándose uno o más agentes terapéuticos inmunoestimulantes, composiciones que comprenden agentes terapéuticos inmunoestimulantes o terapias de combinación no ha recibido una terapia antes de la administración de los agentes terapéuticos inmunoestimulantes, composiciones que comprenden agentes terapéuticos inmunoestimulantes o terapias de combinación. En otras realizaciones, se administran uno o más agentes terapéuticos inmunoestimulantes, composiciones que comprenden agentes terapéuticos inmunoestimulantes o terapias de combinación a un sujeto que ha recibido una terapia antes de la administración de uno o más agentes terapéuticos inmunoestimulantes, composiciones que comprenden agentes terapéuticos inmunoestimulantes o terapias de combinación. En algunas realizaciones, el sujeto al que se le administra un agente terapéutico inmunoestimulante o una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante era resistente a una terapia previa o experimentaba efectos secundarios adversos a la terapia previa o la terapia previa se interrumpió debido a niveles inaceptables de toxicidad para el sujeto.

#### 5.5.1.2 Enfermedades infecciosas

En un aspecto específico, se presentan en el presente documento métodos para prevenir, tratar y/o gestionar una enfermedad infecciosa, que comprenden administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un agente terapéutico inmunoestimulante o una composición del mismo. En una realización específica, un agente terapéutico inmunoestimulante o una composición del mismo es el único agente activo administrado a un sujeto.

Las enfermedades infecciosas que pueden tratarse, prevenirse y/o gestionarse por agentes terapéuticos inmunoestimulantes están provocadas por agentes infecciosos incluyendo pero sin limitarse a bacterias, hongos, protozoos y virus. Las enfermedades virales que pueden prevenirse, tratarse y/o gestionarse según los métodos descritos en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, las provocadas por hepatitis tipo A, hepatitis tipo B, hepatitis tipo C, gripe (por ejemplo, gripe A o gripe B), varicela, adenovirus, herpes simple tipo I (VHS-I), herpes simple tipo II (VHS-II), peste bovina, rinovirus, virus ECHO, rotavirus, virus respiratorio sincicial, virus del papiloma, papovavirus, citomegalovirus, equinovirus, arbovirus, huntavirus, virus de Coxsackie, virus de las paperas, virus del sarampión, virus de la rubéola, virus de la poliomielitis, viruela, virus de Epstein Barr, virus de la inmunodeficiencia humana tipo I (VIH-I), virus de la inmunodeficiencia humana tipo II (VIH-II) y agentes de enfermedades virales tales como meningitis viral, encefalitis, dengue o viruela.

Las enfermedades bacterianas provocadas por bacterias (por ejemplo, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus viridans* y *Pseudomonas aeruginosa*) que pueden prevenirse, tratarse y/o gestionarse según los métodos descritos en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, micobacterias, *Rickettsia*, *Mycoplasma*, *Neisseria*, *S. pneumonia*, *Borrelia burgdorferi* (enfermedad de Lyme), *Bacillus anthracis* (carbunco), tétanos, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Mycobacterium*, tosferina, cólera, peste, difteria, *Chlamydia*, *S. aureus* y *Legionella*.

Las enfermedades protozoarias provocadas por protozoos que pueden prevenirse, tratarse y/o gestionarse según los métodos descritos en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, *Leishmania*, *Kokzidioa*, *Trypanosoma*, *Schistosoma* o malaria. Las enfermedades parasitarias provocadas por parásitos que pueden prevenirse, tratarse y/o gestionarse según los métodos descritos en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, *Chlamydia* y *Rickettsia*.

Las infecciones fúngicas que pueden prevenirse, tratarse y/o gestionarse según los métodos descritos en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, infecciones con *Candida*, cigomicosis, mastitis por *Candida*, tricosporonosis diseminada progresiva con tricosporonemia latente, candidiasis diseminada, paracoccidioidomicosis pulmonar, aspergilosis pulmonar, neumonía por *Pneumocystis carinii*, meningitis por criptococos, meningoencefalitis por coccidioides y vasculitis cerebroespinal, infección con *Aspergillus niger*, queratitis por *Fusarium*, micosis del seno paranasal, endocarditis por *Aspergillus fumigatus*, discondroplasia de la tibia, vaginitis por *Candida glabrata*, candidiasis orofaríngea, enfermedad granulomatosa crónica ligada al cromosoma X, tiña del piel, candidiasis cutánea, placentitis micótica, tricosporonosis diseminada, aspergilosis broncopulmonar alérgica, queratitis micótica, infección con *Cryptococcus neoformans*, peritonitis fúngica, infección con *Curvularia geniculata*, endoftalmítis por *Staphylococcus*, esporotricosis y dermatofitosis.

En determinadas realizaciones, la administración de un agente terapéutico inmunoestimulante o una composición del mismo a un sujeto (en algunas realizaciones, un modelo animal) logra uno, dos, tres, cuatro o más de los siguientes efectos: (i) reducción o mejora de la gravedad de una enfermedad infecciosa o síntoma asociado con la misma; (ii) reducción en la duración de una enfermedad infecciosa o síntoma asociado con la misma; (iii) prevención de la evolución de una enfermedad infecciosa o síntoma asociado con la misma; (iv) regresión de una enfermedad infecciosa o síntoma asociado con la misma; (v) prevención del desarrollo o la aparición de una enfermedad infecciosa o síntoma asociado con la misma; (vi) prevención de la recaída de una enfermedad infecciosa o síntoma asociado con la misma; (vii) reducción o prevención de la propagación de un agente infeccioso de una célula a otra célula, de un tejido a otro tejido o de un órgano a otro órgano; (viii) prevención o reducción de la propagación/transmisión de un agente infeccioso de un sujeto a otro sujeto; (ix) reducción en la insuficiencia orgánica asociada con una enfermedad infecciosa; (x) reducción en la hospitalización de un sujeto; (xi) reducción en la duración de la hospitalización; (xii) un aumento en la supervivencia de un sujeto con una enfermedad infecciosa; (xiii) eliminación de una enfermedad infecciosa; (xiv) inhibición o reducción en la replicación de un agente infeccioso; (xv) inhibición o reducción en la entrada de un agente infeccioso en una(s) célula(s); (xvi) inhibición o reducción de la replicación del genoma de un agente infeccioso; (xvii) inhibición o reducción en la síntesis de proteínas del agente infeccioso; (xviii) inhibición o reducción en el ensamblaje de agentes infecciosos; (xix) inhibición o reducción en la liberación de agentes infecciosos de una(s) célula(s); (xviii) reducción en el número o título de un agente infeccioso; (xix) la reducción en el número de síntomas asociados con una enfermedad infecciosa; (xx) potenciación, mejora, suplementación, complementación o aumento del/de los efecto(s) profiláctico(s) o terapéutico(s) de otra terapia; y (xxi) prevención de la aparición o evolución de una infección secundaria asociada con una enfermedad infecciosa.

En determinadas realizaciones, la administración de un agente terapéutico inmunoestimulante o una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante a un sujeto (en algunas realizaciones, un modelo animal) infectado con un agente infeccioso inhibe o reduce la replicación del agente infeccioso en al menos el 20%, el 25%, el 30%, el 35%, el 40%, el 45%, el 50%, el 55%, el 60%, el 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, o el 95%, o del 20% al 25%, preferiblemente de al menos el 25% al 30%, de al menos el 30% al 35%, del al menos el 35% al 40%, de al menos el 40% al 45%, de al menos el 45% al 50%, de al menos el 50% al 55%, de al menos el 55% al 60%, de al menos el 60% al 65%, de al menos el 65% al 70%, de al menos el 70% al 75%, de al menos el 75% al 80%, o hasta al menos el 85% en relación con un control negativo (por ejemplo, PBS) tal como se determina usando un ensayo descrito en el presente documento u otros conocidos por un experto en la técnica. En algunas realizaciones, la administración de un agente terapéutico inmunoestimulante o una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante a un sujeto (en algunas realizaciones, un modelo animal) infectado con un agente infeccioso inhibe o reduce la replicación del agente infeccioso en al menos 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 8 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, o de 2 a 5 veces, de 2 a 10 veces, de 5 a 10 veces, o de 5 a 20 veces en relación con control negativo (por ejemplo, PBS) tal como se determina usando un ensayo descrito en el presente documento u otros conocidos por un experto en la técnica. En otras realizaciones, la administración de un agente terapéutico inmunoestimulante o una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante a un sujeto (en algunas realizaciones, un modelo animal) infectado con un agente infeccioso inhibe o reduce la replicación del agente infeccioso en 1 log, 1,5 log, 2 log, 2,5 log, 3 log, 3,5 log, 4 log, 5 log o más en relación con un control negativo (por ejemplo, PBS) tal como se determina usando un ensayo descrito en el presente documento u otros conocidos por un experto en la técnica.

En determinadas realizaciones, la administración de un agente terapéutico inmunoestimulante o una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante a un sujeto (en algunas realizaciones, un modelo animal) infectado con un agente infeccioso reduce el título del agente infeccioso en al menos el 20%, el 25%, el 30%, el 35%, el 40%, el 45%, el 50%, el 55%, el 60%, el 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, o el 95%, o del 20% al 25%, preferiblemente de al menos el 25% al 30%, de al menos el 30% al 35%, de al menos el 35% al 40%, de al menos el 40% al 45%, de al menos el 45% al 50%, de al menos el 50% al 55%, de al menos el 55% al 60%, de al menos el 60% al 65%, de al menos el 65% al 70%, de al menos el 70% al 75%, de al menos el 75% al 80%, o hasta al menos el 85% en relación con un control negativo (por ejemplo, PBS) tal como se determina usando un ensayo descrito en el presente documento u otros conocidos por un experto en la técnica. En algunas realizaciones, la administración de un agente terapéutico inmunoestimulante o una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante a un sujeto (en algunas realizaciones, un modelo animal) infectado con un agente infeccioso reduce el título del agente infeccioso en al menos 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 4 veces, 5

veces, 8 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, o de 2 a 5 veces, de 2 a 10 veces, de 5 a 10 veces o de 5 a 20 veces en relación con un control negativo (por ejemplo, PBS) tal como se determina usando un ensayo descrito en el presente documento u otros conocidos por un experto en la técnica. En otras realizaciones, la administración de un agente terapéutico inmunoestimulante o una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante a un sujeto (en algunas realizaciones, un modelo animal) infectado con un agente infeccioso reduce el título del agente infeccioso en 1 log, 1,5 log, 2 log, 2,5 log, 3 log, 3,5 log, 4 log, 5 log o más en relación con un control negativo (por ejemplo, PBS) tal como se determina usando un ensayo descrito en el presente documento u otros conocidos por un experto en la técnica.

En determinadas realizaciones, se administran dos o más agentes terapéuticos inmunoestimulantes diferentes a un sujeto. En algunas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante a un sujeto en combinación con una o más de otras terapias. Se describen ejemplos no limitativos de otras terapias que pueden usarse en combinación con agentes terapéuticos inmunoestimulantes en las secciones 5.7 y siguientes. En una realización, la combinación de un agente terapéutico inmunoestimulante y una o más de otras terapias proporciona un efecto terapéutico aditivo en relación con los efectos terapéuticos del agente terapéutico inmunoestimulante solo o las una o más de otras terapias solas. En una realización, la combinación de un agente terapéutico inmunoestimulante y una o más de otras terapias proporciona más de un efecto terapéutico aditivo en relación con los efectos terapéuticos del agente terapéutico inmunoestimulante solo o la una o más de otras terapias solas. En una realización, la combinación de un agente terapéutico inmunoestimulante y una o más de otras terapias proporciona un efecto terapéutico sinérgico en relación con el efecto terapéutico del agente terapéutico inmunoestimulante solo o las una o más de otras terapias solas.

En una realización específica, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante a un sujeto en combinación con uno o más antibióticos. En otra realización, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante en combinación con uno o más antivirales. En otra realización, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante en combinación con uno o más antifúngicos. En otra realización, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante en combinación con B7-DC Ig, (por ejemplo, Amp-224 (Amplimmune; Rockville, Maryland)).

#### 5.5.1.2.1 Población de pacientes

En algunas realizaciones, se administran agentes terapéuticos inmunoestimulantes, composiciones que comprenden agentes terapéuticos inmunoestimulantes o terapias de combinación a un sujeto que padece una enfermedad infecciosa provocada por agentes infecciosos incluyendo, pero sin limitarse a bacterias, hongos, protozoos y virus. En determinadas realizaciones, se administran agentes terapéuticos inmunoestimulantes, composiciones que comprenden agentes terapéuticos inmunoestimulantes o terapias de combinación a un sujeto al que se le diagnostica que tiene una enfermedad infecciosa provocada por agentes infecciosos incluyendo, pero sin limitarse a bacterias, hongos, protozoos y virus. En otras realizaciones, se administran agentes terapéuticos inmunoestimulantes, composiciones que comprenden agentes terapéuticos inmunoestimulantes o terapias de combinación a un sujeto predispuesto o susceptible a una enfermedad infecciosa. En algunas realizaciones, se administran agentes terapéuticos inmunoestimulantes, composiciones que comprenden agentes terapéuticos inmunoestimulantes o terapias de combinación a un sujeto que vive en una región en donde ha habido o puede haber un brote con infecciones por agentes infecciosos. En algunas realizaciones, la infección es una infección latente. En otras realizaciones, la infección por el agente infeccioso es una infección activa. En determinadas realizaciones, la infección por el agente infeccioso es una infección aguda. En aún otras realizaciones, la infección por el agente infeccioso es una infección crónica.

En algunas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un mamífero. En determinadas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un mamífero que tiene de 0 a 6 meses de edad, de 6 a 12 meses de edad, de 1 a 5 años de edad, de 5 a 10 años de edad, de 10 a 15 años de edad, de 15 a 20 años de edad, de 20 a 25 años de edad, de 25 a 30 años de edad, de 30 a 35 años de edad, de 35 a 40 años de edad, de 40 a 45 años de edad, de 45 a 50 años de edad, de 50 a 55 años de edad, de 55 a 60 años de edad, de 60 a 65 años de edad, de 65 a 70 años de edad, de 70 a 75 años de edad, de 75 a 80 años de edad, de 80 a 85 años de edad, de 85 a 90 años de edad, de 90 a 95 años de edad o de 95 a 100 años de edad. En determinadas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a una mascota, por ejemplo, un perro o un gato. En determinadas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un animal de granja o ganado, por ejemplo, cerdos, vacas, caballos, pollos, etc. En determinadas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un ave, por ejemplo, patos o pollos.

En determinadas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un ser humano en riesgo de una enfermedad infecciosa. En determinadas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante,

- una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un ser humano con una enfermedad infecciosa. En algunas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un ser humano al que se le ha diagnosticado que tiene una enfermedad infecciosa. En determinadas realizaciones, el paciente es un ser humano de 0 a 6 meses de edad, de 6 a 12 meses de edad, de 1 a 5 años de edad, de 5 a 10 años de edad, de 5 a 12 años de edad, de 10 a 15 años de edad, de 15 a 20 años de edad, de 13 a 19 años de edad, de 20 a 25 años de edad, de 25 a 30 años de edad, de 20 a 65 años de edad, de 30 a 35 años de edad, de 35 a 40 años de edad, de 40 a 45 años de edad, de 45 a 50 años de edad, de 50 a 55 años de edad, de 55 a 60 años de edad, de 60 a 65 años de edad, de 65 a 70 años de edad, de 70 a 75 años de edad, de 75 a 80 años de edad, de 80 a 85 años de edad, de 85 a 90 años de edad, de 90 a 95 años de edad o de 95 a 100 años de edad. En algunas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un lactante humano o lactante humano prematuro. En otras realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un niño humano. En otras realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un adulto humano. En aún otras realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un anciano humano.
- En determinadas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un primate, preferiblemente un ser humano u otro mamífero, tal como un cerdo, vaca, caballo, oveja, cabra, perro, gato y roedor, en un estado inmunocomprometido o estado inmunosuprimido o en riesgo de llegar a estar inmunocomprometido o inmunosuprimido. En determinadas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un sujeto que recibe o se recupera de una terapia inmunosupresora. En determinadas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un sujeto que tiene o corre el riesgo de contraer cáncer, SIDA, otra infección o una infección bacteriana. En determinadas realizaciones, un sujeto que se somete, se someterá o se ha sometido a cirugía, quimioterapia y/o radioterapia. En determinadas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un sujeto que tiene fibrosis quística, fibrosis pulmonar u otra enfermedad que hace que el sujeto sea susceptible a una infección. En determinadas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un sujeto que tiene, tendrá o tuvo un trasplante de tejido. En algunas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un sujeto que vive en una residencia, un hogar grupal (es decir, un hogar para 10 o más sujetos) o una prisión. En algunas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un sujeto que asiste a una escuela (por ejemplo, escuela primaria, escuela secundaria, instituto o universidad) o guardería. En algunas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un sujeto que trabaja en un área de atención sanitaria, tal como un médico o una enfermera, o en un hospital. En determinadas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a una paciente que está embarazada o que quedará embarazada.
- En determinadas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un sujeto que tiene niveles de expresión anómalos de uno o más de los siguientes: B7-H2, ICOS, CD28 o CTLA-4. En algunas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación a un sujeto que tiene niveles de expresión anómalos de o bien B7-H7, B7-H7CR o bien ambos.
- En algunas realizaciones, se le administra a un paciente un agente terapéutico inmunoestimulante, una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante o una terapia de combinación antes de que se desarrolle cualquier efecto adverso o intolerancia a terapias distintas de agentes terapéuticos inmunoestimulantes. En algunas realizaciones, se administran agentes terapéuticos inmunoestimulantes, composiciones que comprenden agentes terapéuticos inmunoestimulantes o terapias de combinación a pacientes resistentes. En una determinada realización, un paciente resistente es un paciente resistente a una terapia convencional. En determinadas realizaciones, un paciente con una enfermedad infecciosa es resistente a una terapia cuando la enfermedad infecciosa no se ha erradicado significativamente y/o los síntomas no se han aliviado significativamente. La determinación de si un paciente es resistente puede hacerse o bien *in vivo* o bien *in vitro* mediante cualquier método conocido en la técnica para someter a ensayo la eficacia de un tratamiento de una enfermedad infecciosa, usando los significados aceptados en la técnica de "resistente" en tal contexto. En diversas realizaciones, un paciente con una infección es resistente cuando la replicación del agente infeccioso no ha disminuido o ha aumentado.

En algunas realizaciones, se administran agentes terapéuticos inmunoestimulantes, composiciones que comprenden agentes terapéuticos inmunoestimulantes o terapias de combinación a un paciente para prevenir la aparición o recaída de una enfermedad infecciosa en un paciente en riesgo de desarrollar una enfermedad de este tipo. En algunas realizaciones, se administran agentes terapéuticos inmunoestimulantes, composiciones que comprenden

5 agentes terapéuticos inmunoestimulantes o terapias de combinación a un paciente que es susceptible a reacciones adversas a terapias convencionales.

En algunas realizaciones, se administran uno o más agentes terapéuticos inmunoestimulantes, composiciones que comprenden agentes terapéuticos inmunoestimulantes o terapias de combinación a un paciente que se ha comprobado que es resistente a terapias distintas de agentes terapéuticos inmunoestimulantes, pero que ya no sigue estas terapias. En determinadas realizaciones, los pacientes que están gestionándose o tratándose según los métodos de esta invención son pacientes que ya están tratándose con antibióticos, antivirales, antifúngicos u otra terapia biológica/inmunoterapia. Entre estos pacientes están pacientes resistentes, pacientes que son demasiado jóvenes para terapias convencionales y pacientes con infecciones virales recurrentes a pesar de la gestión o el

10 tratamiento con terapias existentes.

15

En algunas realizaciones, el sujeto al que están administrándose uno o más agentes terapéuticos inmunoestimulantes, composiciones que comprenden agentes terapéuticos inmunoestimulantes o terapias de combinación no ha recibido una terapia antes de la administración de los agentes terapéuticos inmunoestimulantes, las composiciones que comprenden agentes terapéuticos inmunoestimulantes o las terapias de combinación. En otras realizaciones, se administran uno o más agentes terapéuticos inmunoestimulantes, composiciones que comprenden agentes terapéuticos inmunoestimulantes o terapias de combinación a un sujeto que ha recibido una terapia antes de la administración de uno o más agentes terapéuticos inmunoestimulantes o composiciones que comprenden uno o más agentes terapéuticos inmunoestimulantes o terapias de combinación. En algunas

20 realizaciones, el sujeto al que se le administra un agente terapéutico inmunoestimulante o una composición que comprende un agente terapéutico inmunoestimulante era resistente a una terapia previa o experimentaba efectos secundarios adversos a la terapia previa o la terapia previa se interrumpió debido a niveles inaceptables de toxicidad para el sujeto.

25

## 30 5.6 USOS PROFILÁCTICOS Y TERAPÉUTICOS DE AGENTES TERAPÉUTICOS QUE SUPRIMEN LA FUNCIÓN INMUNITARIA

### 5.6.1 Supresión de la función inmunitaria

En un aspecto, se presentan en el presente documento métodos para suprimir una o más funciones o respuestas del sistema inmunitario en una función del sujeto en un sujeto, que comprenden administrar a un sujeto que lo necesita un agente terapéutico inhibidor o una composición del mismo. En una realización específica, se presentan en el presente documento métodos para prevenir, tratar y/o gestionar enfermedades en las que es deseable suprimir la función inmunitaria, que comprenden administrar a un sujeto que lo necesita un agente terapéutico inhibidor o una

35 composición del mismo. En realizaciones específicas, puede administrarse un agente terapéutico inhibidor a un sujeto en combinación con una o más de otras terapias para suprimir la función o respuesta inmunitaria.

40

Los ejemplos no limitativos de enfermedades que pueden prevenirse, tratarse o gestionarse suprimiendo la función inmunitaria incluyen, pero no se limitan a, enfermedad autoinmunitaria, trastornos inflamatorios, enfermedad de injerto contra huésped y rechazo de trasplante.

45

En una realización específica, un agente terapéutico inhibidor suprime una o más respuestas o funciones inmunitarias en un sujeto en al menos el 99%, al menos el 95%, al menos el 90%, al menos el 85%, al menos el 80%, al menos el 75%, al menos el 70%, al menos el 60%, al menos el 50%, al menos el 45%, al menos el 40%, al menos el 35%, al menos el 30%, al menos el 25%, al menos el 20% o al menos 10%, o en el intervalo de entre el 10% y el 25%, el 25% y el 50%, el 50% y el 75%, o el 75% y el 95% en relación con la función inmunitaria en un sujeto al que no se le administra el agente terapéutico inmunoestimulante usando ensayos bien conocidos en la técnica, por ejemplo, ensayos de ELISPOT, ELISA y proliferación celular. En una realización específica, la función inmunitaria es liberación de citocinas (por ejemplo, interferón-gamma, IL-2, IL-5 o IL-12). En una realización, la función inmunitaria es proliferación de células NK, que puede someterse a ensayo, por ejemplo, mediante citometría de flujo para detectar el número de células que expresan marcadores de células NK (por ejemplo, CD56). En una realización, la función inmunitaria es proliferación de células T, que puede someterse a ensayo, por ejemplo, mediante citometría de flujo para detectar el número de células que expresan marcadores de células T (por ejemplo, CD3, CD4 o CD8). En otra realización, la función inmunitaria es producción de anticuerpos, que puede someterse a ensayo, por ejemplo, mediante ELISA. En algunas realizaciones, la función inmunitaria es función efectora, que puede someterse a ensayo, por ejemplo, mediante un ensayo de citotoxicidad u otros ensayos bien conocidos en la técnica. En otra realización, la función inmunitaria es una respuesta Th1. En otra realización, la función inmunitaria es una respuesta Th2. En otra realización, la función inmunitaria es una respuesta Th17. En otra realización, la función inmunitaria es una respuesta Th22. En otra realización, la función inmunitaria es una respuesta de Treg.

50

55

60

65

En realizaciones específicas, ejemplos no limitativos de funciones inmunitarias que pueden suprimirse mediante el agente terapéutico inhibidor son proliferación/expansión de linfocitos (por ejemplo, aumento en el número de linfocitos), inhibición de la apoptosis de linfocitos, activación de células dendríticas (o células presentadoras de antígenos) y presentación de antígenos. En realizaciones particulares, una función inmunitaria suprimida por el agente terapéutico inhibidor es proliferación/expansión en el número de o la activación de células T CD4<sup>+</sup> (por ejemplo, células T auxiliares Th1 y Th2), células T CD8<sup>+</sup> (por ejemplo, linfocitos T citotóxicos, células T alfa/beta y células T gamma/delta), células B (por ejemplo, células plasmáticas), células T de memoria, células B de memoria, células dendríticas (inmaduras o maduras), células presentadoras de antígenos, macrófagos, mastocitos, células T citolíticas naturales (células NKT), células T residentes en tumores, células T CD122<sup>+</sup> Treg o células citolíticas naturales (células NK). En una realización, el agente terapéutico inhibidor suprime la proliferación/expansión o el número de progenitores de linfocitos. En algunas realizaciones, un agente terapéutico inhibidor disminuye el número de células T CD4<sup>+</sup> (por ejemplo, células T auxiliares Th1 y Th2), células T CD8<sup>+</sup> (por ejemplo, linfocitos T citotóxicos, células T alfa/beta y células T gamma/delta), células B (por ejemplo, células plasmáticas), células T de memoria, células B de memoria, células dendríticas (inmaduras o maduras), células presentadoras de antígenos, macrófagos, mastocitos, células T citolíticas naturales (células NKT), células T residentes en tumores, células T CD122<sup>+</sup> o células citolíticas naturales (células NK) en aproximadamente al menos el 99%, al menos el 95%, al menos el 90%, al menos el 85%, al menos el 80%, al menos el 75%, al menos el 70%, al menos el 60%, al menos el 50%, al menos el 45%, al menos el 40%, al menos el 35%, al menos el 30%, al menos el 25%, al menos el 20% o al menos el 10%, o en el intervalo de entre el 10% y el 25%, el 25% y el 50%, el 50% y el 75% o el 75% y el 95% en relación con un control negativo (por ejemplo, número de las respectivas células no tratadas, cultivadas ni puestas en contacto con un agente terapéutico inhibidor).

En determinadas realizaciones, algunas funciones del sistema inmunitario, tales como proliferación o actividad de Treg, aumentan cuando la respuesta inmunitaria disminuye.

A continuación se proporcionan diversas enfermedades autoinmunitarias e inflamatorias que pueden prevenirse, tratarse y/o gestionarse.

En determinadas realizaciones, un agente terapéutico inhibidor potencia, activa o induce una o más rutas de transducción de señales mediadas por la unión a CTLA-4 a no o más de sus ligandos (por ejemplo, B7-1, B7-2 o B7-H2). En algunas realizaciones, un agente terapéutico inhibidor inhibe o reduce la unión de CTLA-4 nativo a uno o más de sus ligandos (por ejemplo, B7-1, B7-2 o B7-H2) tal como se describe en el presente documento. En una realización específica, un agente terapéutico inhibidor es un polipéptido de B7-H2-Ig agonista o derivado del mismo descrito en el presente documento.

En determinadas realizaciones, un agente terapéutico inhibidor inhibe o reduce una o más rutas de transducción de señales mediadas por la unión de CD28 a uno o más de sus ligandos (por ejemplo, B7-1, B7-2 o B7-H2). En algunas realizaciones, un agente terapéutico inhibidor inhibe o reduce la unión de CD28 nativo a uno o más de sus ligandos (por ejemplo, B7-1, B7-2 o B7-H2) tal como se describe en el presente documento. En una realización específica, un agente terapéutico inhibidor es un polipéptido de B7-H2-Ig antagonista o derivado del mismo descrito en el presente documento.

En determinadas realizaciones, un agente terapéutico inhibidor inhibe o reduce una o más rutas de transducción de señales mediadas por la unión de ICOS a uno o más de sus ligandos (por ejemplo, B7-H2). En algunas realizaciones, un agente terapéutico inhibidor inhibe o reduce la unión de ICOS nativo a uno o más de sus ligandos (por ejemplo, B7-H2) tal como se describe en el presente documento. En una realización específica, un agente terapéutico inhibidor es un polipéptido de B7-H2-Ig antagonista o derivado del mismo descrito en el presente documento.

#### 5.6.1.1 Trastornos autoinmunitarios e inflamatorios

En una realización específica, se presenta en el presente documento un método para tratar, prevenir y/o gestionar un trastorno autoinmunitario o trastorno inflamatorio en un sujeto, que comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un agente terapéutico inhibidor o una composición del mismo. En otra realización, se presenta en el presente documento un método para reducir la inflamación en un sujeto, que comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un agente terapéutico inhibidor o una composición del mismo. Los ejemplos no limitativos de trastornos autoinmunitarios y trastornos inflamatorios incluyen rechazo de trasplante y enfermedad de injerto contra huésped (GVHD). Se produce GVHD cuando las células inmunitarias de un donante (por ejemplo, células T de un donante) atacan a células en el cuerpo del sujeto receptor. El rechazo de trasplante se produce cuando un órgano o tejido trasplantado no es aceptado por el cuerpo del receptor del trasplante. En general, el rechazo de trasplante se debe al sistema inmunitario del receptor (por ejemplo, células T del receptor) que ataca al órgano o tejido trasplantado.

En determinadas realizaciones, la administración de un agente terapéutico inhibidor o una composición del mismo a un sujeto (en algunas realizaciones, un modelo animal) logra uno, dos, tres, cuatro o más de los siguientes efectos: (i) reducción o mejora de la gravedad de un trastorno autoinmunitario o inflamatorio o síntoma asociado con el

- mismo; (ii) reducción en la duración de un síntoma asociado con un trastorno autoinmunitario o inflamatorio; (iii) prevención de la evolución de un trastorno autoinmunitario o inflamatorio, o síntoma asociado con el mismo; (iv) regresión de un trastorno autoinmunitario o inflamatorio, o síntoma asociado con el mismo; (v) prevención del desarrollo o la aparición de un síntoma asociado con un trastorno autoinmunitario o inflamatorio; (vi) prevención de la recaída de un síntoma asociado con un trastorno autoinmunitario o inflamatorio; (vii) reducción en la insuficiencia orgánica asociada con un trastorno autoinmunitario o inflamatorio; (viii) reducción en la hospitalización de un sujeto; (ix) reducción en la duración de la hospitalización; (x) un aumento en la supervivencia de un sujeto con un trastorno autoinmunitario o inflamatorio; (xi) una reducción en el número de síntomas asociados con un trastorno autoinmunitario o inflamatorio; (xii) una reducción en la inflamación de células inflamatorias; (xiii) una reducción en citocinas inflamatorias; (xiv) una reducción en la inflamación asociada con un trastorno autoinmunitario o inflamatorio; (xv) mejora de la esperanza de vida; (xvi) aumento de la supervivencia libre de síntomas; (xvii) aumento de la duración de la remisión libre de síntomas; y/o (xviii) una potenciación, una mejora, una suplementación, una complementación o un aumento del/de los efecto(s) terapéutico(s) o profiláctico(s) de otra terapia.
- 15 En una realización específica, la administración de un agente terapéutico inhibidor o composición que comprende un agente terapéutico inhibidor a un sujeto (en algunas realizaciones, un modelo animal) reduce la inflamación en un sujeto en al menos el 99%, al menos el 95%, al menos el 90%, al menos el 85%, al menos el 80%, al menos el 75%, al menos el 70%, al menos el 60%, al menos el 50%, al menos el 45%, al menos el 40%, al menos el 35%, al menos el 30%, al menos el 25%, al menos el 20% o al menos el 10%, o en el intervalo de entre el 10% y el 25%, el 25% y el 50%, el 50% y el 75% o el 75% y el 95% en relación con la inflamación en un sujeto al que no se le ha administrado el agente terapéutico inhibidor usando métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, la reducción en la inflamación puede medirse mediante la reducción en la secreción de citocinas (por ejemplo, factor de necrosis tumoral alfa, interferón gamma). En una realización específica, la administración de un agente terapéutico inhibidor o composición que comprende un agente terapéutico inhibidor a un sujeto (en algunas realizaciones, un modelo animal) reduce la producción y/o secreción de citocinas inflamatorias en un sujeto en al menos el 99%, al menos el 95%, al menos el 90%, al menos el 85%, al menos el 80%, al menos el 75%, al menos el 70%, al menos el 60%, al menos el 50%, al menos el 45%, al menos el 40%, al menos el 35%, al menos el 30%, al menos el 25%, al menos el 20% o al menos el 10%, o en el intervalo de entre el 10% y el 25%, el 25% y el 50%, el 50% y el 75% o el 75% y el 95% en relación con la producción y/o secreción de citocinas inflamatorias en un sujeto al que no se le ha administrado el agente terapéutico inhibidor usando métodos conocidos en la técnica.

En otras realizaciones, puede administrarse un agente terapéutico inhibidor en combinación con una o más de otras terapias para suprimir la función o respuesta inmunitaria en un sujeto. En determinadas realizaciones, se administran dos o más agentes terapéuticos inmunoestimulantes diferentes a un sujeto. En algunas realizaciones, se administra un agente terapéutico inmunoestimulante a un sujeto en combinación con una o más de otras terapias. Pueden usarse diversos agentes antiinflamatorios conocidos en la técnica en combinación con agentes terapéuticos inhibidores. Véase la sección 5.7 y siguientes para ejemplos de terapias. En determinadas realizaciones, se administra un agente terapéutico inhibidor en combinación con CTLA-4-Ig (por ejemplo, abatacept, belatacept), un anticuerpo anti-TNF alfa (por ejemplo, Remicade) o TNFR-Ig (por ejemplo, Enbrel).

40

#### 5.6.1.1.1 Tipos de enfermedades

Los ejemplos de trastornos autoinmunitarios que pueden prevenirse, tratarse y/o gestionarse según los métodos descritos en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, celiacía (enfermedad celíaca), alopecia areata, espondilitis anquilosante, síndrome antifosfolípidos, enfermedad de Addison autoinmunitaria, enfermedades autoinmunitarias de la glándula suprarrenal, anemia hemolítica autoinmunitaria, hepatitis autoinmunitaria, ooforitis y orquitis autoinmunitaria, trombocitopenia autoinmunitaria, enfermedad de Behçet, pénfigo vesicular, miocardiopatía, esprúe celíaco-dermatitis, síndrome de fatiga crónica y disfunción inmunitaria (CFIDS), polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica, síndrome de Churg-Strauss, penfigoide cicatricial, síndrome CREST, enfermedad de crioglobulinina, enfermedad de Crohn, lupus discoide, crioglobulinemia mixta esencial, fibromialgia/fibromiositis, glomerulonefritis, enfermedad de Graves, Guillain-Barre, tiroiditis de Hashimoto, fibrosis pulmonar idiopática, púrpura trombocitopénica idiopática (ITP), neuropatía por IgA, artritis juvenil, liquen plano, lupus eritematoso, enfermedad de Ménière, enfermedad de tejido conjuntivo mixto, esclerosis múltiple, diabetes mellitus tipo 1 o mediada inmunitariamente, miastenia grave, pénfigo vulgar, anemia perniciosa, poliarteritis nudosa, policondritis, síndromes poliglandulares, polimialgia reumática, polimiositis y dermatomiositis, agammaglobulinemia primaria, cirrosis biliar primaria, psoriasis, artritis psoriásica, fenómeno de Raynaud, síndrome de Reiter, artritis reumatoide, sarcoidosis, esclerodermia, síndrome de Sjögren, síndrome del hombre rígido, lupus eritematoso sistémico, lupus eritematoso, arteritis de Takayasu, arteritis temporal/arteritis de células gigantes, colitis ulcerosa, uveítis, vasculitis tales como vasculitis por dermatitis herpática, vitiligo y granulomatosis de Wegener. Los ejemplos de trastornos inflamatorios incluyen, pero no se limitan a, asma, encefalitis, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), trastornos alérgicos, choque séptico, fibrosis pulmonar, espondiloartropatía indiferenciada, artropatía indiferenciada, artritis, osteólisis inflamatoria e inflamación crónica que resulta de infecciones bacterianas o virales crónicas. Algunos trastornos autoinmunitarios están asociados con un estado inflamatorio. Por tanto, hay un solapamiento entre lo que se considera un trastorno autoinmunitario y un trastorno antiinflamatorio. Por tanto, algunos trastornos autoinmunitarios pueden caracterizarse también como trastornos inflamatorios.

65

5.6.1.1.2 Población de pacientes

- 5 En algunas realizaciones, se administran agentes terapéuticos inhibidores, composiciones que comprenden agentes terapéuticos inhibidores o terapias de combinación a un sujeto que padece una enfermedad autoinmunitaria o trastorno inflamatorio. En otras realizaciones, se administran agentes terapéuticos inhibidores, composiciones que comprenden agentes terapéuticos inhibidores o terapias de combinación a un sujeto predispuesto o susceptible a desarrollar una enfermedad autoinmunitaria o trastorno inflamatorio.
- 10 En determinadas realizaciones, se administra un agente terapéutico inhibidor, una composición que comprende un agente terapéutico inhibidor o una terapia de combinación a un mamífero. En realizaciones específicas, se administra un agente terapéutico inhibidor, una composición que comprende un agente terapéutico inhibidor o una terapia de combinación se administra a un mamífero que tiene de 0 a 6 meses de edad, de 6 a 12 meses de edad, de 1 a 5 años de edad, de 5 a 10 años de edad, de 10 a 15 años de edad, de 15 a 20 años de edad, de 20 a 25 años de edad, de 25 a 30 años de edad, de 30 a 35 años de edad, de 35 a 40 años de edad, de 40 a 45 años de edad, de 45 a 50 años de edad, de 50 a 55 años de edad, de 55 a 60 años de edad, de 60 a 65 años de edad, de 65 a 70 años de edad, de 70 a 75 años de edad, de 75 a 80 años de edad, de 80 a 85 años de edad, de 85 a 90 años de edad, de 90 a 95 años de edad o de 95 a 100 años de edad.
- 20 En determinadas realizaciones, se administra un agente terapéutico inhibidor, una composición que comprende un agente terapéutico inhibidor o una terapia de combinación a un ser humano en riesgo de desarrollar una enfermedad autoinmunitaria o trastorno inflamatorio. En determinadas realizaciones, se administra un agente terapéutico inhibidor, una composición que comprende un agente terapéutico inhibidor o una terapia de combinación a un ser humano con una enfermedad autoinmunitaria o trastorno inflamatorio. En determinadas realizaciones, se administra un agente terapéutico inhibidor, una composición que comprende un agente terapéutico inhibidor o una terapia de combinación a un humano al que se le diagnostica que tiene una enfermedad autoinmunitaria o trastorno inflamatorio. En determinadas realizaciones, el paciente es un ser humano de 0 a 6 meses de edad, de 6 a 12 meses de edad, de 1 a 5 años de edad, de 5 a 10 años de edad, de 5 a 12 años de edad, de 10 a 15 años de edad, de 15 a 20 años de edad, de 13 a 19 años de edad, de 20 a 25 años de edad, de 25 a 30 años de edad, de 30 a 35 años de edad, de 35 a 40 años de edad, de 40 a 45 años de edad, de 45 a 50 años de edad, de 50 a 55 años de edad, de 55 a 60 años de edad, de 60 a 65 años de edad, de 65 a 70 años de edad, de 70 a 75 años de edad, de 75 a 80 años de edad, de 80 a 85 años de edad, de 85 a 90 años de edad, de 90 a 95 años de edad o de 95 a 100 años de edad. En algunas realizaciones, se administra un agente terapéutico inhibidor, una composición que comprende un agente terapéutico inhibidor o una terapia de combinación a un lactante humano o lactante humano prematuro. En otras realizaciones, se administra un agente terapéutico inhibidor, una composición que comprende un agente terapéutico inhibidor o una terapia de combinación a un niño humano. En otras realizaciones, se administra un agente terapéutico inhibidor, una composición que comprende un agente terapéutico inhibidor o una terapia de combinación a un adulto humano. En aún otras realizaciones, se administra un agente terapéutico inhibidor, una composición que comprende un agente terapéutico inhibidor o una terapia de combinación a un anciano humano.
- 35 En determinadas realizaciones, se administra un agente terapéutico inhibidor, una composición que comprende un agente terapéutico inhibidor o una terapia de combinación a una mascota, por ejemplo, un perro o un gato. En determinadas realizaciones, se administra un agente terapéutico inhibidor, una composición que comprende un agente terapéutico inhibidor o una terapia de combinación a un animal de granja o ganado, por ejemplo, cerdos, vacas, caballos, pollos, etc.
- 45 En determinadas realizaciones, se administra un agente terapéutico inhibidor, una composición que comprende un agente terapéutico inhibidor o una terapia de combinación a un primate, preferiblemente un ser humano, u otro mamífero, tal como un cerdo, vaca, caballo, oveja, cabra, perro, gato y roedor, en un estado inmunocomprometido o estado inmunosuprimido o en riesgo de llegar a estar inmunocomprometido o inmunosuprimido. En determinadas realizaciones, se administra un agente terapéutico inhibidor, una composición que comprende un agente terapéutico inhibidor o una terapia de combinación a un sujeto que recibe o que se recupera de una terapia inmunosupresora. En determinadas realizaciones, se administra un agente terapéutico inhibidor, una composición que comprende un agente terapéutico inhibidor o una terapia de combinación a un sujeto que tiene o corre el riesgo de contraer SIDA, una infección viral o una infección bacteriana. En determinadas realizaciones, un sujeto que se somete, se someterá o se ha sometido a cirugía, quimioterapia y/o radioterapia.
- 55 En algunas realizaciones, se administra un agente terapéutico inhibidor, una composición que comprende un agente terapéutico inhibidor o una terapia de combinación a un sujeto que tiene niveles de expresión anómalos de o bien B7-H7, B7-H7CR o bien ambos.
- 60 En algunas realizaciones, se le administra a un paciente un agente terapéutico inhibidor, una composición que comprende un agente terapéutico inhibidor o una terapia de combinación antes de que se desarrolle cualquier efecto adverso o intolerancia a terapias distintas de agentes terapéuticos inhibidores. En algunas realizaciones, se administran agentes terapéuticos inhibidores, composiciones que comprenden agentes terapéuticos inhibidores o
- 65

terapias de combinación a pacientes resistentes. En una determinada realización, un paciente resistente es un paciente resistente a una terapia convencional. En determinadas realizaciones, un paciente con una enfermedad autoinmunitaria o trastorno inflamatorio es resistente a una terapia cuando la enfermedad autoinmunitaria o trastorno inflamatorio, respectivamente, no se ha erradicado significativamente y/o los síntomas no se han aliviado significativamente. La determinación de si un paciente es resistente puede hacerse o bien *in vivo* o bien *in vitro* mediante cualquier método conocido en la técnica para someter a ensayo la eficacia de un tratamiento, usando los significados aceptados en la técnica de "resistente" en tal contexto. En diversas realizaciones, un paciente con un trastorno inflamatorio es resistente cuando la inflamación no ha disminuido o ha aumentado.

En algunas realizaciones, se administran agentes terapéuticos inhibidores, composiciones que comprenden agentes terapéuticos inhibidores o terapias de combinación a un paciente que es susceptible a reacciones adversas a terapias convencionales.

En algunas realizaciones, se administran uno o más agentes terapéuticos inhibidores, composiciones que comprenden agentes terapéuticos inhibidores o terapias de combinación a un paciente que se ha comprobado que es resistente a terapias distintas de agentes terapéuticos inhibidores, pero que ya no sigue estas terapias. En determinadas realizaciones, los pacientes que están gestionándose o tratándose según los métodos descritos en el presente documento son pacientes que ya se han tratado con antibióticos, agentes anticancerígenos, agentes antiinflamatorios u otra terapia biológica/inmunoterapia. Entre estos pacientes están pacientes resistentes, pacientes que son demasiado jóvenes para terapias convencionales.

En algunas realizaciones, el sujeto al que están administrándose uno o más agentes terapéuticos inhibidores, composiciones que comprenden agentes terapéuticos inhibidores o terapias de combinación no ha recibido una terapia previa a la administración de los agentes terapéuticos inhibidores, las composiciones que comprenden agentes terapéuticos inhibidores o las terapias de combinación. En otras realizaciones, se administran uno o más agentes terapéuticos inhibidores, composiciones que comprenden agentes terapéuticos inhibidores o terapias de combinación a un sujeto que ha recibido una terapia previa a la administración de uno o más agentes terapéuticos inhibidores, composiciones que comprenden agentes terapéuticos inhibidores o terapias de combinación. En algunas realizaciones, el sujeto al que se le ha administrado un agente terapéutico inhibidor o una composición que comprende un agente terapéutico inhibidor era resistente a una terapia previa o experimentaba efectos secundarios adversos a la terapia previa o la terapia previa se interrumpió debido a niveles inaceptables de toxicidad para el sujeto.

### 5.7 TERAPIAS DE COMBINACIÓN

Otras terapias que pueden usarse en combinación con agentes terapéuticos (es decir, agentes terapéuticos inmunoestimulantes y/o agentes terapéuticos inhibidores) para la prevención, el tratamiento y/o la gestión de una enfermedad que se ve afectada por la respuesta o función inmunitaria, por ejemplo, cáncer, enfermedad infecciosa, enfermedad autoinmunitaria e inflamatoria y rechazo de trasplante, incluyen, pero no se limitan a, moléculas pequeñas, fármacos sintéticos, péptidos (incluyendo péptidos cíclicos), polipéptidos, proteínas, ácidos nucleicos (por ejemplo, nucleótidos de ADN y ARN incluyendo, pero sin limitarse a, secuencias de nucleótidos antisentido, hélices triples, iARN y secuencias de nucleótidos que codifican para proteínas, polipéptidos o péptidos biológicamente activos), anticuerpos, moléculas inorgánicas sintéticas o naturales, agentes miméticos y moléculas orgánicas sintéticas o naturales. Los ejemplos específicos de tales terapias incluyen, pero no se limitan a, agentes inmunomoduladores (por ejemplo, interferón), agentes antiinflamatorios (por ejemplo, adrenocorticoides, corticosteroides (por ejemplo, beclometasona, budesonida, flunisolida, fluticasona, triamcinolona, metilprednisolona, prednisolona, prednisona, hidrocortisona), glucocorticoides, esteroides y fármacos antiinflamatorios no esteroideos (por ejemplo, aspirina, ibuprofeno, diclofenaco e inhibidores de COX-2), analgésicos, antagonistas de leucotrienos (por ejemplo, montelukast, metilxantinas, zafirlukast y zileuton), agonistas beta2 (por ejemplo, albuterol, biterol, fenoterol, isoetarina, metaproterenol, pirbuterol, salbutamol, terbutalina formoterol, salmeterol y salbutamol terbutalina), anticuerpos anti-PD1, inhibidores de PD1, agentes anticolinérgicos anti-B7-H1, anti-CTLA-4, CTLA-4-Ig (por ejemplo, bromuro de ipratropio y bromuro de oxitropio), sulfasalazina, penicilamina, dapsona, antihistamínicos, agentes antipalúdicos (por ejemplo, hidroxiclороquina), agentes antivirales (por ejemplo, análogos de nucleósidos (por ejemplo, zidovudina, aciclovir, gangciclovir, vidarabina, idoxuridina, trifluridina y ribavirina), foscarnet, amantadina, rimantadina, saquinavir, indinavir, ritonavir y AZT) y antibióticos (por ejemplo, dactinomicina (anteriormente actinomicina), bleomicina, eritromicina, penicilina, mitramicina y antramicina (AMC)).

En determinadas realizaciones, se usan anticuerpos anti-TNF alfa (por ejemplo, Remicade), CTLA-4-Ig (por ejemplo, orencia) y/o TNFR-Ig (por ejemplo, Enbrel) en combinación con un agente terapéutico para prevenir, tratar y/o gestionar una enfermedad autoinmunitaria, enfermedad inflamatoria, artritis reumatoide y/o rechazo de trasplante.

Cualquier terapia que se sepa que es útil, o que se ha usado o está usándose actualmente para la prevención, la gestión y/o el tratamiento de una enfermedad que se ve afectada por la respuesta o función inmunitaria puede usarse en combinación con agentes terapéuticos. Véanse, por ejemplo, Gilman *et al.*, Goodman and Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10<sup>a</sup> ed., McGraw-Hill, Nueva York, 2001; The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, Berkow, M.D. *et al.* (eds.), 17<sup>a</sup> ed., Merck Sharp & Dohme Research Laboratories, Rahway, NJ, 1999;

Cecil Textbook of Medicine, 20ª ed., Bennett y Plum (eds.), W.B. Saunders, Filadelfia, 1996, y Physicians' Desk Reference (61ª ed. 2007) para información referente a terapias (por ejemplo, agentes profilácticos o terapéuticos) que se han usado o están usándose actualmente para prevenir, tratar y/o gestionar una enfermedad o trastorno.

### 5 5.7.1 Agentes anticancerígenos/agentes inmunomoduladores

Los ejemplos no limitativos de una o más de otras terapias que pueden usarse en combinación con un agente terapéutico incluyen agentes inmunomoduladores, tales como pero sin limitarse a, agentes quimioterápicos y agentes inmunomoduladores no quimioterápicos. Los ejemplos no limitativos de agentes quimioterápicos incluyen ciclofosfamida, metotrexato, ciclosporina A, leflunomida, cisplatino, ifosfamida, taxanos tales como taxol y paclitaxol, inhibidores de topoisomerasa I (por ejemplo, CPT-11, topotecán, 9-AC y GG-211), gemcitabina, vinorelbina, oxaliplatino, 5-fluorouracilo (5-FU), leucovorina, vinorelbina, temodal, citocalasina B, gramicidina D, emetina, mitomicina, etopósido, tenopósido, vincristina, vinblastina, colchicina, doxorubicina, daunorubicina, dihidroxiandrindiona, mitoxantrona, mitramicina, actinomicina D, 1-deshidrotestosterona, glucocorticoides, procaína, tetracaína, lidocaína, propranolol y homólogos de puromicina, y citoxano. Los ejemplos de agentes inmunomoduladores no quimioterápicos incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos anti-receptor de células T (por ejemplo, anticuerpos anti-CD4 (por ejemplo, cM-T412 (Boeringer), IDEC-CE9.1® (IDEC y SKB), AcM 4162W94, Orthoclone y OKTcdr4a (Janssen-Cilag)), anticuerpos anti-CD3 (por ejemplo, Nuvion (Product Design Labs), OKT3 (Johnson & Johnson) o Rituxan (IDEC)), anticuerpos anti-CD5 (por ejemplo, un inmunoconjugado anti-CD5 unido a ricina), anticuerpos anti-CD7 (por ejemplo, CHH-380 (Novartis)), anticuerpos anti-CD8, anticuerpos monoclonales anti-ligando de CD40 (por ejemplo, IDEC-131 (IDEC)), anticuerpos anti-CD52 (por ejemplo, CAMPATH 1H (Illex)), anticuerpos anti-CD2 (por ejemplo, MEDI-507 (MedImmune, Inc., publicaciones internacionales n.ºs WO 02/098370 y WO 02/069904), anticuerpos anti-CD11a (por ejemplo, Xanelim (Genentech)) y anticuerpos anti-B7 (por ejemplo, IDEC-114) (IDEC)); anticuerpos anti-receptor de citocina (por ejemplo, anticuerpos anti-receptor de IFN, anticuerpos anti-receptor de IL-2 (por ejemplo, Zenapax (Protein Design Labs)), anticuerpos anti-receptor de IL-4, anticuerpos anti-receptor de IL-6, anticuerpos anti-receptor de IL-10 y anticuerpos anti-receptor de IL-12), anticuerpos anti-citocina (por ejemplo, anticuerpos anti-IFN, anticuerpos anti-TNF-alfa, anticuerpos anti-IL-1-alfa, anticuerpos anti-IL-6, anticuerpos anti-IL-8 (por ejemplo, ABX-TL-8 (Abgenix)), anticuerpos anti-IL-12 y anticuerpos anti-IL-23)); CTLA4-inmunoglobulina; LFA-3TIP (Biogen, publicación internacional n.º WO 93/08656 y patente estadounidense n.º 6.162.432); receptores de citocinas solubles (por ejemplo, el dominio extracelular de un receptor de TNF-alfa o un fragmento del mismo, el dominio extracelular de un receptor de IL-1 alfa o un fragmento del mismo y el dominio extracelular de un receptor de IL-6 o un fragmento del mismo); citocinas o fragmentos de las mismas (por ejemplo, interleucina (IL)-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-15, IL-23, INF-alfa, INF-beta, interferón (IFN)-alfa, IFN-beta, IFN-gamma y GM-CSF); y anticuerpos anti-citocina (por ejemplo, anticuerpos anti-IL-2, anticuerpos anti-IL-4, anticuerpos anti-IL-6, anticuerpos anti-IL-10, anticuerpos anti-IL-12, anticuerpos anti-IL-15, anticuerpos anti-TNF-alfa y anticuerpos anti-IFN-gamma), y anticuerpos que se unen de manera inmunoespecífica a antígenos asociados a tumor (por ejemplo, Herceptin®). En determinadas realizaciones, un agente inmunomodulador es un agente inmunomodulador distinto de un agente quimioterápico. En otras realizaciones un agente inmunomodulador es un agente inmunomodulador distinto de una citocina o un factor hematopoyético tal como IL-1, IL-2, IL-4, IL-12, IL-15, TNF, IFN-alfa, IFN-beta, IFN-gamma, M-CSF, G-CSF, IL-3 o eritropoyetina. En aún otras realizaciones, un agente inmunomodulador es un agente distinto de un agente quimioterápico y una citocina o un factor hematopoyético.

Los ejemplos no limitativos de agentes anticancerígenos que pueden usarse como terapias en combinación con agentes terapéuticos, incluyen, pero no se limitan a: acivicina; aclarubicina; clorhidrato de acodazol; acronina; adozelesina; aldesleucina; altretamina; ambomicina; acetato de ametantrona; aminoglutetimida; amsacrina; anastrozol; antramina; asparaginasa; asperlina; azacitidina; azetepa; azotomicina; batimastat; benzodepa; bicalutamida; clorhidrato de bisantreno; dimesilato de bisnafida; bizelesina; sulfato de bleomicina; brequinar sódico; bropirimina; busulfano; cactinomicina; calusterona; caracemida; carbetímero; carboplatino; carmustina; clorhidrato de carubicina; carzelesina; cedefingol; clorambucilo; cirolemicina; cisplatino; cladribina; mesilato de crisnatol; ciclofosfamida; citarabina; dacarbazina; dactinomicina; clorhidrato de daunorubicina; decitabina; dexormaplatino; dezaguanina; mesilato de dezaguanina; diazicuona; docetaxel; doxorubicina; clorhidrato de doxorubicina; droloxifeno; citrato de droloxifeno; propionato de dromostanolona; duazomicina; edatrexato; clorhidrato de eflornitina; elsamitrucina; enloplatino; enpromato; epipropidina; clorhidrato de epirubicina; erbulozol; clorhidrato de esorubicina; estramustina; fosfato sódico de estramustina; etanidazol; etopósido; fosfato de etopósido; etoprina; clorhidrato de fadrozol; fazarabina; fenretinida; floxuridina; fosfato de fludarabina; fluorouracilo; flurocitabina; fosquidona; fostriecina sódica; gemcitabina; clorhidrato de gemcitabina; hidroxiaurea; clorhidrato de idarubicina; ifosfamida; ilmofosina; interleucina II (incluyendo interleucina recombinante II, o rIL2), interferón alfa-2a; interferón alfa-2b; interferón alfa-n1; interferón alfa-n3; interferón beta-1a; interferón gamma-1b; iproplatino; clorhidrato de irinotecán; acetato de lanreotida; letrozol; acetato de leuprolida; clorhidrato de liarozol; lometrexol sódico; lomustina; clorhidrato de losoxantrona; masoprocol; maitansina; clorhidrato de mecloretamina; acetato de megestrol; acetato de melengestrol; melfalán; menogarilo; mercaptopurina; metotrexato; metotrexato sódico; metoprina; meturedpa; mitindomida; mitocarcina; mitocromina; mitogilina; mitomalcina; mitomicina; mitosper; mitotano; clorhidrato de mitoxantrona; ácido micofenólico; nocodazol; nogalamina; ormaplatino; oxisurano; paclitaxel; pegaspargasa; peliomicina; pentamustina; sulfato de peplomicina; perfosfamida; pipobromano; pipsulfano; clorhidrato de piroxantrona; plicamicina; plomestano; porfímero sódico; porfiromicina; prednimustina; clorhidrato de procarbazona; puromicina; clorhidrato de

puromicina; pirazofurina; riboprina; rogletimida; safingol; clorhidrato de safingol; semustina; simtrazeno; esparfosato  
 sódico; esparsomicina; clorhidrato de espirogermanio; espiromustina; espiroplatino; estreptonigrina; estreptozocina;  
 sulofenur; talisomicina; tecogalán sódico; tegafur; clorhidrato de teloxantrona; temoporfina; tenipósido; teroxirona;  
 5 testolactona; tiamiprina; tioguanina; tiotepa; tiazofurina; tirapazamina; citrato de toremifeno; acetato de trestolona;  
 fosfato de tricribina; trimetrexato; glucuronato de trimetrexato; triptorelina; clorhidrato de tubulozol; mostaza de  
 uracilo; uredepa; vapreotida; verteporfina; sulfato de vinblastina; sulfato de vincristina; vindesina; sulfato de  
 vindesina; sulfato de vinepidina; sulfato de vinglicinato; sulfato de vinleurosina; tartrato de vinorelbina; sulfato de  
 10 vinrosidina; sulfato de vinzolidina; vorozol; zeniplatino; zinostatina; clorhidrato de zorubicina. Otros fármacos  
 anticancerígenos incluyen, pero no se limitan a: 20-epi-1,25-dihidroxivitamina D3; 5-etiniluracilo; abiraterona;  
 aclarubicina; acilfulveno; adecipenol; adozelesina; aldesleucina; antagonistas de ALL-TK; altretamina; ambamustina;  
 amidox; amifostina; ácido aminolevulínico; amrubicina; amsacrina; anagrelida; anastrozol; andrografolida; inhibidores  
 de la angiogénesis; antagonista D; antagonista G; antarelix; proteína morfogenética anti-dorsalización-1;  
 antiandrógeno, carcinoma prostático; antiestrógeno; antineoplastón; oligonucleótidos antisentido; glicinato de  
 15 afidicolina; moduladores de genes de apoptosis; reguladores de la apoptosis; ácido apurínico; ara-CDP-DL-PTBA;  
 arginina desaminasa; asulacrina; atamestano; atrimustina; axinastatina 1; axinastatina 2; axinastatina 3; azasetrón;  
 azatoxina; azatirosina; derivados de bacatina III; balanol; batimastat; antagonistas de BCR/ABL; benzoclorinas;  
 benzoilestaurosporina; derivados de beta-lactama; beta-aletina; betaclamina B; ácido betulínico; inhibidor de bFGF;  
 bicalutamida; bisantreno; bisaziridinilepermina; bisnafida; bistrateno A; bizelesina; breflato; bropirimina; budotitano;  
 butionina sulfoximina; calcipotriol; calfofina C; derivados de camptotecina; IL-2 de viruela de los canarios;  
 20 capecitabina; carboxamida-aminotriazol; carboxiamidotriazol; CaRest M3; CARN 700; inhibidor derivado de cartílago;  
 carzelesina; inhibidores de caseína cinasa (ICOS); castanospermina; cecopina B; cetorelix; clorinas;  
 cloroquinoxalina sulfonamida; cicaprost; cis-porfirina; cladribina; análogos de clomifeno; clotrimazol; colismicina A;  
 colismicina B; combretastatina A4; análogo de combretastatina; conagenina; crambescidina 816; crisnatol;  
 25 criptoficina 8; derivados de criptoficina A; curacina A; ciclopentantraquinonas; cicloplatamo; cipemicina; ocfosfato de  
 citarabina; factor citolítico; citostatina; dacliximab; decitabina; deshidrodidemina B; deslorelina; dexametasona;  
 dexifosfamida; dexrazoxano; dexverapamil; diazicuona; didemina B; didox; dietilnoespermina; dihidro-5-  
 azacitidina; dihidrotaxol, 9-; dioxamicina; difenilespiromustina; docetaxel; docosanol; dolasetrón; doxiluridina;  
 droloxifeno; dronabinol; duocarmicina SA; ebselen; ecomustina; edelfosina; edrecolomab; eflornitina; elemeno;  
 30 emitetur; epirubicina; epristerida; análogo de estramustina; agonistas de estrógenos; antagonistas de estrógenos;  
 etanidazol; fosfato de etopósido; exemestano; fadrozol; fazarabina; fenretinida; filgrastim; finasterida; flavopiridol;  
 flezelastina; fluasterona; fludarabina; clorhidrato de fluorodaunorubicina; forfenimex; formestano; fostriecina;  
 fotemustina; gadolinio texapirina; nitrato de galio; galocitabina; ganirelix; inhibidores de gelatinasa; gemcitabina;  
 inhibidores de glutatión; hepsulfamo; heregulina; bisacetamida de hexametileno; hipericina; ácido ibandrónico;  
 idarubicina; idoxifeno; idramantona; ilmofofina; ilomastat; imidazoacridonas; imiquimod; péptidos  
 35 inmuoestimulantes; inhibidor del receptor del factor de crecimiento similar a la insulina-1; agonistas de interferón;  
 interferones; interleucinas; iobenguano; yododoxorubicina; ipomeanol, 4-; iroplact; irsogladina; isobengazol;  
 isohomohalicondrina B; itasetrón; jasplakinolida; kahalalida F; triacetato de lamelarina-N; lanreotida; leinamicina;  
 lenograstim; sulfato de lentinano; leptolestatina; letrozol; factor de inhibición de leucemia; interferón alfa de  
 leucocitos; leuprolida+estrógeno+progesterona; leuprorelina; levamisol; liarozol; análogo de poliamina lineal; péptido  
 40 de disacárido lipófilo; compuestos de platino lipófilos; lisoclinamida 7; lobaplatino; lombricina; lometrexol; lonidamina;  
 losoxantrona; inhibidor de HMG-CoA reductasa (tal como pero sin limitarse a, lovastatina, pravastatina, fluvastatina,  
 estatina, simvastatina y atorvastatina); loxoribina; lurtotecán; lutecio texafirina; lisofilina; péptidos líticos; maitasina;  
 manostatina A; marimastat; masoprocol; maspina; inhibidores de matrilisina; inhibidores de metaloproteinasas de la  
 matriz; menogarilo; merbarona; meterelina; metioninasa; metoclopramida; inhibidor de MIF; mifepristona; miltefosina;  
 45 mirimostim; ARN bicatenario desapareado; mitoguazona; mitolactol; análogos de mitomicina; mitonafida; mitotoxina-  
 factor de crecimiento de fibroblastos-saporina; mitoxantrona; mofaroteno; molgramostim; anticuerpo monoclonal,  
 gonadotropina coriónica humana; monofosforil lipido A+pared celular de *Mycobacterium* sk; mopidamol; inhibidor de  
 gen de resistencia a múltiples fármacos; terapia basada en supresor de tumores múltiples 1; agente anticancerígeno  
 de mostaza; micaper-óxido B; extracto de pared celular de micobacterias; miriaporona; N-acetilidinalina; benzamidas  
 50 N-sustituidas; nafarelina; nagrestip; naloxona+pentazocina; napavina; nafterpina; nartograstim; nedaplatino;  
 nemorubicina; ácido neridrónico; endopeptidasa neutra; nilutamida; nisamicina; moduladores de óxido nítrico;  
 antioxidante de nitrógeno; nitrulina; O6-bencilguanina; octreotida; oquicenona; oligonucleótidos; onapristona;  
 ondansetrón; ondansetrón; oracina; inductor de citocina oral; ormaplatino; osaterona; oxaliplatino; oxaunomicina;  
 paclitaxel; análogos de paclitaxel; derivados de paclitaxel; palauamina; palmitoilrixoxina; ácido pamidrónico;  
 55 panaxitriol; panomifeno; parabactina; pazeliptina; pegaspargasa; peldesina; polisulfato sódico de pentosano;  
 pentostatina; pentrozol; perflubrón; perfosfamida; alcohol perillílico; fenazinomicina; acetato de fenilo; inhibidores de  
 fosfatasa; picibanilo; clorhidrato de pilocarpina; pirarubicina; piritrexim; placetina A; placetina B; inhibidor de activador  
 de plasminógeno; complejo de platino; compuestos de platino; complejo de platino-triamina; porfímero sódico;  
 porfiromicina; prednisona; propil-bis-acridona; prostaglandina J2; inhibidores del proteosoma; modulador inmunitario  
 60 basado en proteína A; inhibidor de proteína cinasa C; inhibidores de proteína cinasa C, microalgal; inhibidores de  
 proteína tirosina fosfatasa; inhibidores de purina nucleósido fosforilasa; purpurinas; pirazoloacridina; conjugado de  
 hemoglobina-polioxietileno piridoxilado; antagonistas de raf; raltitrexed; ramosetrón; inhibidores de ras farnesil  
 proteína transferasa; inhibidores de ras; inhibidor de ras-GAP; reteliptina desmetilada; renio Re 186 etidronato;  
 rizoxina; ribozimas; RII retinamida; rogletimida; rohituquina; romurtida; roquinimex; rubiginona B1; ruboxilo; safingol;  
 65 saintopina; SarCNU; sarcofitol A; sargramostim; miméticos de Sdi 1; semustina; inhibidor 1 derivado de senescencia;  
 oligonucleótidos sentido; inhibidores de la transducción de señales; moduladores de la transducción de señales;

proteína de unión a antígeno de cadena sencilla; sizofirán; sobuzoxano; borocaptato de sodio; fenilacetato de sodio; solverol; proteína de unión a somatomedina; sonermina; ácido esparfósico; espicamicina D; espiromustina; esplenopentina; espongiatina 1; escualamina; inhibidor de células madre; inhibidores de la división de células madre; estipiámina; inhibidores de estromelina; sulfinosina; antagonista de péptido intestinal vasoactivo superactivo; suradista; suramina; swainsonina; glicosaminoglicanos sintéticos; talimustina; tamoxifeno metiodida; taumustina; tazaroteno; tecogalán sódico; tegafur; telurapirilio; inhibidores de telomerasa; temoporfina; temozolomida; tenipósido; tetraclorodecaóxido; tetrazomina; taliblastina; tiocoralina; trombopoyetina; mimético de trombopoyetina; timalfasina; agonista de receptor de timopoyetina; timotrinano; hormona estimulante del tiroides; etiletiopurpurina de estaño; tirapazamina; bicloruro de titanoceno; topsentina; toremifeno; factor de células madre totipotentes; inhibidores de la traducción; tretinoína; triacetiluridina; triciribina; trimetrexato; triptorelina; tropisetron; turosterida; inhibidores de tirosina cinasa; tirfostinas; inhibidores de UBC; ubenimex; factor inhibidor del crecimiento derivado del seno urogenital; antagonistas del receptor de urocina; vapreotida; variolina B; sistema de vector, terapia génica de eritrocitos; velaresol; veramina; verdinas; verteporfina; vinorelbina; vinxaltina; Vitaxin®; vorozol; zanotrona; zeniplatino; zilascorb; y estimalámeero de zinostatina. Fármacos anticancerígenos adicionales son 5-fluorouracilo y leucovorina. Estos dos agentes son particularmente útiles cuando se usan en métodos que emplean talidomida y un inhibidor de topoisomerasa. En realizaciones específicas, un agente anticancerígeno no es un agente quimioterápico.

En determinadas realizaciones, ciertas de las terapias descritas en esta sección 5.7.1 se usan en combinación con un agente terapéutico para prevenir, tratar o gestionar una enfermedad autoinmunitaria, enfermedad inflamatoria y/o rechazo de trasplante.

### 5.7.2 Agentes antivirales

Los agentes antivirales que pueden usarse en combinación con agentes terapéuticos incluyen, pero no se limitan a, inhibidores de la transcriptasa inversa no nucleosídicos, inhibidores de la transcriptasa inversa nucleosídicos, inhibidores de la proteasa e inhibidores de la fusión. En una realización, el agente antiviral se selecciona del grupo que consiste en amantadina, fosfato de oseltamivir, rimantadina y zanamivir. En otra realización, el agente antiviral es un inhibidor de la transcriptasa inversa no nucleosídico seleccionado del grupo que consiste en delavirdina, efavirenz y nevirapina. En otra realización, el agente antiviral es un inhibidor de la transcriptasa inversa nucleosídico seleccionado del grupo que consiste en abacavir, didanosina, emtricitabina, emtricitabina, lamivudina, estavudina, tenofovir DF, zalcitabina y zidovudina. En otra realización, el agente antiviral es un inhibidor de la proteasa seleccionado del grupo que consiste en amprenavir, atazanavir, fosamprenavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir, ritonavir, y saquinavir. En otra realización, el agente antiviral es un inhibidor de la fusión tal como enfuvirtida.

Los ejemplos adicionales, no limitativos de agentes antivirales para su uso en combinación con agentes terapéuticos incluyen los siguientes: rifampicina, inhibidores de la transcriptasa inversa nucleosídicos (por ejemplo, AZT, ddI, ddC, 3TC, d4T), inhibidores de la transcriptasa inversa no nucleosídicos (por ejemplo, delavirdina, efavirenz, nevirapina), inhibidores de la proteasa (por ejemplo, amprenavir, indinavir, ritonavir y saquinavir), idoxuridina, cidofovir, aciclovir, ganciclovir, zanamivir, amantadina y palivizumab. Otros ejemplos de agentes antivirales incluyen pero no se limitan a acemanano; aciclovir; aciclovir sódico; adefovir; alovudina; alvircept sudotox; clorhidrato de amantadina (SYMMETRELTM); arantina; arildona; mesilato de atevirdina; avridina; cidofovir; cipamfilina; clorhidrato de citarabina; mesilato de delavirdina; desciclovir; didanosina; disoxarilo; edoxudina; enviroxina; enviroxima; famciclovir; clorhidrato de famotina; ficitabina; fialuridina; fosarilato; foscarnet sódico; fosfonet sódico; ganciclovir; ganciclovir sódico; idoxuridina; cetoxal; lamivudina; lobucavir; clorhidrato de memotina; metisazona; nevirapina; fosfato de oseltamivir (TAMIFLUTM); penciclovir; pirodovir; ribavirina; clorhidrato de rimantadina (FLUMADINETM); mesilato de saquinavir; clorhidrato de somantadina; sorivudina; estatolona; estavudina; clorhidrato de tilorona; trifluridina; clorhidrato de valaciclovir; vidarabina; fosfato de vidarabina; fosfato sódico de vidarabina; viroxima; zalcitabina; zanamivir (RELENZATM); zidovudina; y zinviroxima.

### 5.7.3 Agentes antibacterianos

Los agentes antibacterianos, incluyendo antibióticos, que pueden usarse en combinación con agentes terapéuticos incluyen, pero no se limitan a, antibióticos de aminoglicósidos, glicopéptidos, antibióticos de amfenicol, antibióticos de ansamicina, cefalosporinas, cefamicinas oxazolidinonas, penicilinas, quinolonas, estreptogaminas, tetraciclinas y análogos de los mismos. En algunas realizaciones, se administran antibióticos en combinación con un agente terapéutico para prevenir y/o tratar una infección bacteriana.

En una realización específica, se usan agentes terapéuticos en combinación con otros inhibidores de la síntesis de proteínas, incluyendo pero sin limitarse a, estreptomina, neomicina, eritromicina, carbomicina y espiramicina.

En una realización, el agente antibacteriano se selecciona del grupo que consiste en ampicilina, amoxicilina, ciprofloxacino, gentamicina, kanamicina, neomicina, penicilina G, estreptomina, sulfanilamida y vancomicina. En otra realización, el agente antibacteriano se selecciona del grupo que consiste en azitromicina, cefonicid, cefotetán, cefalotina, cefamicina, clortetraciclina, claritromicina, clindamicina, cicloserina, dalfopristina, doxiciclina, eritromicina, linezolid, mupirocina, oxitetraciclina, quinupristina, rifampina, espectinomina y trimetoprim.

Los ejemplos adicionales, no limitativos de agentes antibacterianos para su uso en combinación con agentes terapéuticos incluyen los siguientes: antibióticos de aminoglicósidos (por ejemplo, apramicina, arbekacina, bambermicinas, butirosina, dibekacina, neomicina, neomicina, undecilenato, netilmicina, paromomicina, ribostamicina, sisomicina y espectinomina), antibióticos de amfenicol (por ejemplo, azidamfenicol, cloramfenicol, florfenicol y tiamfenicol), antibióticos de ansamicina (por ejemplo, rifamida y rifampina), carbacefemos (por ejemplo, loracarbef), carbapenemos (por ejemplo, biapenem e imipenem), cefalosporinas (por ejemplo, cefaclor, cefadroxilo, cefamandol, cefatrizina, cefazedona, cefozopran, cefpimizol, cefpiramida y cefpiroma), cefamicinas (por ejemplo, cefbuperazona, cefmetazol y cefminox), análogos de ácido fólico (por ejemplo, trimetoprim), glicopéptidos (por ejemplo, vancomicina), lincosamidas (por ejemplo, clindamicina y lincomicina), macrólidos (por ejemplo, azitromicina, carbomicina, claritomicina, diritromicina, eritromicina y acistrato de eritromicina), monobactamas (por ejemplo, aztreonam, carumonam y tigemonam), nitrofuranos (por ejemplo, furaltadona y cloruro de furazolio), oxacefemos (por ejemplo, flomoxef y moxalactam), oxazolidinonas (por ejemplo, linezolid), penicilinas (por ejemplo, amdinocilina, amdinocilina pivoxilo, amoxicilina, bacampicilina, ácido bencilpenicilínico, bencilpenicilina sódica, epicilina, fenbenicilina, floxacilina, penamciclina, yodhidrato de penetamato, penicilina o benetamina, penicilina O, penicilina V, penicilina V benzatina, penicilina V hidrabamina, penimepiciclina y fencihicilina potásica), quinolonas y análogos de las mismas (por ejemplo, cinoxacino, ciprofloxacino, clinafloxacino, flumequina, grepagloxacino, levofloxacino y moxifloxacino), estreptograminas (por ejemplo, quinupristina y dalfopristina), sulfonamidas (por ejemplo, acetilsulfametoxipirazina, bencilsulfamida, nopriulsulfamida, ftalilsulfacetamida, sulfacrisoidina y sulfacitina), sulfonas (por ejemplo, diatimosulfona, glucosulfona sódica y solasulfona) y tetraciclinas (por ejemplo, apiciclina, clortetraciclina, clomociclina y demeclociclina). Los ejemplos adicionales incluyen cicloserina, mupirocina, tuberina amfomicina, bacitracina, capreomicina, colistina, enduraciclina, enviomicina y 2,4-diaminopirimidinas (por ejemplo, brodimoprim).

## 5.8 ADMINISTRACIÓN Y DOSIFICACIÓN DE AGENTES TERAPÉUTICOS

### 5.8.1 MODO DE ADMINISTRACIÓN DE AGENTES TERAPÉUTICOS

Pueden administrarse agentes terapéuticos por medio de cualquier vía conocida en la técnica. Pueden administrarse agentes terapéuticos o composiciones de los mismos por vía oral, o por cualquier otra vía conveniente, por ejemplo, mediante infusión o inyección en bolo, mediante absorción a través de los revestimientos epiteliales o mucocutáneos (por ejemplo, mucosa oral, rectal y mucosa intestinal) y pueden administrarse junto con otro agente biológicamente activo. La administración puede ser sistémica o local. Se conocen diversos sistemas de administración, por ejemplo, encapsulación en liposomas, micropartículas, microcápsulas, cápsulas, y pueden usarse para administrar los agentes terapéuticos o composiciones de los mismos y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Los métodos de administración incluyen pero no se limitan a parenteral, intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal, epidural, oral, sublingual, intranasal, intracerebral, intravaginal, transdérmica, por vía rectal, mediante inhalación, por vía intratumoral o por vía tópica, particularmente a los oídos, la nariz, los ojos o la piel. El modo de administración se deja al criterio del profesional médico. En algunas realizaciones, la administración dará como resultado la liberación de un agente terapéutico en el torrente sanguíneo.

En realizaciones específicas, puede ser deseable administrar un agente terapéutico localmente. Esto puede lograrse, por ejemplo, y no a modo de limitación, mediante infusión local, aplicación tópica, por ejemplo, conjuntamente con un apósito de heridas, mediante inyección, por medio de un catéter, por medio de un supositorio o por medio de un implante, siendo dicho implante de un material poroso, no poroso o gelatinoso, incluyendo membranas, tales como membranas silásticas, o fibras.

En determinadas realizaciones, puede ser deseable introducir un agente terapéutico en el sistema nervioso central por cualquier vía adecuada, incluyendo inyección intraventricular, intratecal y epidural. La inyección intraventricular puede facilitarse mediante un catéter intraventricular, por ejemplo, unido a un depósito, tal como un depósito Ommaya.

También puede emplearse administración pulmonar, por ejemplo, mediante el uso de un inhalador o nebulizador, y formulación con un agente de aerosolización, o por medio de perfusión en un fluorocarbono o tensioactivo pulmonar sintético.

En determinadas realizaciones, se formula un agente terapéutico como un supositorio, con vehículos y aglutinantes tradicionales tales como triglicéridos.

Para infecciones virales o melanoma con manifestaciones cutáneas, el agente terapéutico puede administrarse por vía tópica.

En otra realización, se administra un agente terapéutico en una vesícula, en particular un liposoma (véanse Langer, 1990, Science 249:1527 1533; Treat *et al.*, en Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Bacterial Infection, Lopez-Berestein y Fidler (eds.), Liss, Nueva York, págs. 353 365 (1989); Lopez Berestein, *ibid.*, págs. 317

327).

En otra realización, se administra un agente terapéutico en un sistema de liberación controlada (véase, por ejemplo, Goodson, en *Medical Applications of Controlled Release*, citado anteriormente, vol. 2, págs. 115-138 (1984)).  
 5 Pueden usarse ejemplos de sistemas de liberación controlada comentados en la revisión de Langer, 1990, *Science* 249:1527-1533. En una realización, puede usarse una bomba (véanse Langer, citado anteriormente; Sefton, 1987, *CRC Crit. Ref. Biomed. Eng.* 14:201; Buchwald *et al.*, 1980, *Surgery* 88:507; Saudek *et al.*, 1989, *N. Engl. J. Med.* 321:574). En otra realización, pueden usarse materiales poliméricos (véanse *Medical Applications of Controlled Release*, Langer y Wise (eds.), CRC Pres., Boca Raton, Florida (1974); *Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance*, Smolen y Ball (eds.), Wiley, Nueva York (1984); Ranger y Peppas, 1983, *J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem.* 23:61; véanse también Levy *et al.*, 1985, *Science* 228:190; Durante *et al.*, 1989, *Ann. Neurol.* 25:351; Howard *et al.*, 1989, *J. Neurosurg.* 71:105). En una realización específica, un sistema de liberación controlada que comprende un agente terapéutico se coloca en proximidad estrecha al tejido afectado por la enfermedad que va a prevenirse, tratarse y/o gestionarse. Según esta realización, la proximidad estrecha del sistema de liberación controlada al tejido afectado puede dar como resultado sólo una fracción de la dosis del agente terapéutico requerido si se administra de manera sistémica.

### 5.8.2 DOSIFICACIÓN DE AGENTES TERAPÉUTICOS

20 La cantidad de un agente terapéutico, o la cantidad de una composición que comprende un agente terapéutico, que será eficaz en la prevención, el tratamiento y/o la gestión de una enfermedad puede determinarse mediante técnicas clínicas convencionales. Opcionalmente, pueden emplearse ensayos *in vitro* o *in vivo* para ayudar a identificar intervalos de dosificación óptimos. La dosis precisa que va a emplearse también dependerá, por ejemplo, de la vía de administración, el tipo de síntomas y la gravedad de los síntomas, y debe decidirse según el juicio del profesional sanitario y las circunstancias de cada paciente o sujeto.

En algunas realizaciones, la dosificación de un agente terapéutico o composiciones del mismo se determina mediante extrapolación a partir del nivel eficaz sin efecto adverso observado (NOAEL), tal como se determina en estudios con animales. Esta dosificación extrapolada es útil en la determinación de la dosis de partida recomendada máxima para ensayos clínicos en seres humanos. Por ejemplo, los NOAEL pueden extrapolarse para determinar dosificaciones equivalentes en seres humanos (HED). Normalmente, se extrapola HED a partir de una dosificación en un animal no humano basándose en las dosis que se normalizan con respecto al área de superficie corporal (es decir, mg/m<sup>2</sup>). En realizaciones específicas, los NOAEL se determinan en ratones, hámsteres, ratas, hurones, cobayas, conejos, perros, primates, primates (monos, titíes, monos ardilla, babuinos), microcerdos o minicerdos.  
 30 Para una discusión sobre el uso de NOAEL y su extrapolación para determinar dosis equivalentes en seres humanos, véase *Guidance for Industry Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers*, U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Pharmacology and Toxicology, julio de 2005. En una realización, un agente terapéutico o composición del mismo se administra a una dosis que es menor que la dosificación equivalente en seres humanos (HED) del NOAEL a lo largo de un periodo de 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 1 mes, 2 meses, tres meses, cuatro meses, seis meses, nueve meses, 1 año, 2 años, 3 años, 4 años o más.

En determinadas realizaciones, un régimen de dosificación para un sujeto humano puede extrapolarse a partir de estudios de modelos animales usando la dosis a la que el 10% de los animales mueren (DL10). En general, la dosis de partida de un ensayo clínico de fase I se basa en pruebas preclínicas. Una medida convencional de la toxicidad de un fármaco en pruebas preclínicas es el porcentaje de animales que mueren debido al tratamiento. Está bien dentro de la experiencia en la técnica correlacionar la DL10 en un estudio con animales con la dosis tolerada máxima (MTD) en seres humanos, ajustada para el área de superficie corporal, como base para extrapolar una dosis en seres humanos de partida. En algunas realizaciones, la interrelación de las dosificaciones para un modelo con animales puede convertirse para su uso en otro animal, incluyendo seres humanos, usando factores de conversión (basándose en miligramos por metro cuadrado de superficie corporal) tal como se describe, por ejemplo, en Freireich *et al.*, *Cancer Chemother. Rep.*, 1966, 50:219-244. El área de superficie corporal puede determinarse aproximadamente a partir de la altura y el peso del paciente. Véase, por ejemplo, *Scientific Tables*, Geigy Pharmaceuticals, Ardley, N. Y., 1970, 537. En determinadas realizaciones, el ajuste del área de superficie corporal incluye factores del huésped tales como, por ejemplo, área de superficie, peso, metabolismo, distribución tisular, tasa de absorción y tasa de excreción. Además, la vía de administración, el uso de excipientes y la enfermedad o el virus específico que va a seleccionarse como diana también son factores a considerar. En una realización, la dosis de partida conservativa convencional es aproximadamente 1/10 de la DL10 murina, aunque puede ser incluso menor si otras especies (es decir, perros) eran más sensibles al agente terapéutico. En otras realizaciones, la dosis de partida conservativa convencional es aproximadamente 1/100, 1/95, 1/90, 1/85, 1/80, 1/75, 1/70, 1/65, 1/60, 1/55, 1/50, 1/45, 1/40, 1/35, 1/30, 1/25, 1/20, 1/15, 2/10, 3/10, 4/10 o 5/10 de la DL10 murina. En otras realizaciones, una cantidad de dosis de partida de un agente terapéutico en un ser humano es menor que la dosis extrapolada a partir de estudios de modelos animales. En otra realización, una cantidad de dosis de partida de un agente terapéutico en un humano es mayor que la dosis extrapolada a partir de estudios de modelos animales. Está bien dentro de la experiencia de la técnica iniciar las dosis de la composición activa a niveles relativamente bajos, y aumentar o

disminuir la dosificación según sea necesario para lograr el efecto deseado con toxicidad mínima.

Las dosis a modo de ejemplo de agentes terapéuticos que comprenden polipéptidos o anticuerpos o composiciones de los mismos incluyen cantidades de miligramos o microgramos por kilogramo de peso de sujeto o muestra (por ejemplo, de aproximadamente 1 microgramo por kilogramo a aproximadamente 500 miligramos por kilogramo, de aproximadamente 5 microgramos por kilogramo a aproximadamente 100 miligramos por kilogramo, o de aproximadamente 1 microgramo por kilogramo a aproximadamente 50 microgramos por kilogramo). En realizaciones específicas, una dosis diaria es de al menos 50 mg, 75 mg, 100 mg, 150 mg, 250 mg, 500 mg, 750 mg o al menos 1 g.

En una realización, la dosificación es una concentración de 0,01 a 5000 mM, de 1 a 300 mM, de 10 a 100 mM y de 10 mM a 1 M. En otra realización, la dosificación es una concentración de al menos 5  $\mu$ M, al menos 10  $\mu$ M, al menos 50  $\mu$ M, al menos 100  $\mu$ M, al menos 500  $\mu$ M, al menos 1 mM, al menos 5 mM, al menos 10 mM, al menos 50 mM, al menos 100 mM o al menos 500 mM.

En una realización, la dosificación es una concentración de 0,01 a 5000 mM, de 1 a 300 mM, de 10 a 100 mM y de 10 mM a 1 M. En otra realización, la dosificación es una concentración de al menos 5  $\mu$ M, al menos 10  $\mu$ M, al menos 50  $\mu$ M, al menos 100  $\mu$ M, al menos 500  $\mu$ M, al menos 1 mM, al menos 5 mM, al menos 10 mM, al menos 50 mM, al menos 100 mM o al menos 500 mM. En una realización específica, la dosificación es de 0,25  $\mu$ g/kg o más, preferiblemente 0,5  $\mu$ g/kg o más, 1  $\mu$ g/kg o más, 2  $\mu$ g/kg o más, 3  $\mu$ g/kg o más, 4  $\mu$ g/kg o más, 5  $\mu$ g/kg o más, 6  $\mu$ g/kg o más, 7  $\mu$ g/kg o más, 8  $\mu$ g/kg o más, 9  $\mu$ g/kg o más, o 10  $\mu$ g/kg o más, 25  $\mu$ g/kg o más, preferiblemente 50  $\mu$ g/kg o más, 100  $\mu$ g/kg o más, 250  $\mu$ g/kg o más, 500  $\mu$ g/kg o más, 1 mg/kg o más, 5 mg/kg o más, 6 mg/kg o más, 7 mg/kg o más, 8 mg/kg o más, 9 mg/kg o más, o 10 mg/kg o más de peso corporal de un paciente.

En otra realización, la dosificación es una dosis unitaria de 1 mg, preferiblemente 2 mg, 5 mg, 10 mg, 50 mg, 100 mg, 150 mg, 200 mg, 250 mg, 300 mg, 350 mg, 400 mg, 500 mg, 550 mg, 600 mg, 650 mg, 700 mg, 750 mg, 800 mg o más. En otra realización, la dosificación es una dosis unitaria que oscila entre aproximadamente 5 mg y aproximadamente 100 mg, aproximadamente 100 mg y aproximadamente 200  $\mu$ g, aproximadamente 150 mg y aproximadamente 300 mg, aproximadamente 150 mg y aproximadamente 400 mg, 250  $\mu$ g y aproximadamente 500 mg, aproximadamente 500 mg y aproximadamente 800 mg, aproximadamente 500 mg y aproximadamente 1000 mg, o aproximadamente 5 mg y aproximadamente 1000 mg.

Las dosis a modo de ejemplo de agentes terapéuticos que comprenden ácidos nucleicos o composiciones de los mismos incluyen 0,1  $\mu$ g, 0,5  $\mu$ g, 1  $\mu$ g, 1,5  $\mu$ g, 2  $\mu$ g, 3  $\mu$ g, 4  $\mu$ g, 5  $\mu$ g, 6  $\mu$ g, 7  $\mu$ g, 8  $\mu$ g, 9  $\mu$ g, 10  $\mu$ g, 15  $\mu$ g, 20  $\mu$ g, 25  $\mu$ g, 30  $\mu$ g, 35  $\mu$ g, 40  $\mu$ g, 45  $\mu$ g, 50  $\mu$ g o 60  $\mu$ g de ácidos nucleicos por dosis. En una realización específica, la dosis está en el intervalo de 10 ng a 100 mg, o de 50 ng a 100 mg, o de 100 ng a 100 mg de ácidos nucleicos por dosis. En algunas realizaciones específicas, la dosis está en el intervalo de 10 pg a 100 mg, o de 50 pg a 100 mg, o de 100 pg a 100 mg, o de 100 pg a 100 ng de ácidos nucleicos por dosis.

En determinadas realizaciones, intervalos de dosificación adecuados para la administración oral son de aproximadamente 0,001 miligramos a aproximadamente 500 miligramos de un agente terapéutico, por kilogramo de peso corporal al día. En realizaciones específicas, la dosis oral es de aproximadamente 0,01 miligramos a aproximadamente 100 miligramos por kilogramo de peso corporal al día, de aproximadamente 0,1 miligramos a aproximadamente 75 miligramos por kilogramo de peso corporal al día o de aproximadamente 0,5 miligramos a 5 miligramos por kilogramo de peso corporal al día. Las cantidades de dosificación descritas en el presente documento se refieren a las cantidades totales administradas; es decir, si se administra más de un agente terapéutico, entonces, en algunas realizaciones, las dosificaciones corresponden a la cantidad total administrada. En una realización específica, las composiciones orales contienen de aproximadamente el 10% a aproximadamente el 95% de un agente terapéutico en peso.

Intervalos de dosificación adecuados para administración intravenosa (i.v.) son de aproximadamente 0,01 miligramos a aproximadamente 100 miligramos por kilogramo de peso corporal al día, de aproximadamente 0,1 miligramos a aproximadamente 35 miligramos por kilogramo de peso corporal al día, y de aproximadamente 1 miligramo a aproximadamente 10 miligramos por kilogramo de peso corporal al día. En algunas realizaciones, intervalos de dosificación adecuados para administración intranasal son de aproximadamente 0,01 pg/kg de peso corporal al día a aproximadamente 1 mg/kg de peso corporal al día. Los supositorios contienen generalmente de aproximadamente 0,01 miligramos a aproximadamente 50 miligramos de un agente terapéutico por kilogramo de peso corporal al día y comprenden principio activo en el intervalo de aproximadamente el 0,5% a aproximadamente el 10% en peso.

Dosificaciones recomendadas para administración intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, subcutánea, epidural, sublingual, intracerebral, intravaginal, transdérmica o administración mediante inhalación están en el intervalo de aproximadamente 0,001 miligramos a aproximadamente 500 miligramos por kilogramo de peso corporal al día. Las dosis adecuadas para administración tópica incluyen dosis que están en el intervalo de aproximadamente 0,001 miligramos a aproximadamente 50 miligramos, dependiendo del área de administración.

En otra realización, se le administra a un sujeto una o más dosis de una cantidad eficaz de un agente terapéutico o una composición del mismo, en el que la cantidad eficaz no es la misma para cada dosis. En otra realización, se le administra a un sujeto una o más dosis de una cantidad eficaz de un agente terapéutico o una composición del mismo, en la que la dosis de una cantidad eficaz administrada a dicho sujeto aumenta en, por ejemplo, 0,011 µg/kg, 0,02 µg/kg, 0,04 µg/kg, 0,05 µg/kg, 0,06 µg/kg, 0,08 µg/kg, 0,1 µg/kg, 0,2 µg/kg, 0,25 µg/kg, 0,5 µg/kg, 0,75 µg/kg, 1 µg/kg, 1,5 µg/kg, 2 µg/kg, 4 µg/kg, 5 µg/kg, 10 µg/kg, 15 µg/kg, 20 µg/kg, 25 µg/kg, 30 µg/kg, 35 µg/kg, 40 µg/kg, 45 µg/kg o 50 µg/kg, a medida que avanza el tratamiento. En otra realización, se le administra a un sujeto una o más dosis de una cantidad eficaz de un agente terapéutico o composición del mismo, en el que la dosis disminuye en, por ejemplo, 0,01 µg/kg, 0,02 µg/kg, 0,04 µg/kg, 0,05 µg/kg, 0,06 µg/kg, 0,08 µg/kg, 0,1 µg/kg, 0,2 µg/kg, 0,25 µg/kg, 0,5 µg/kg, 0,75 µg/kg, 1 µg/kg, 1,5 µg/kg, 2 µg/kg, 4 µg/kg, 5 µg/kg, 10 µg/kg, 15 µg/kg, 20 µg/kg, 25 µg/kg, 30 µg/kg, 35 µg/kg, 40 µg/kg, 45 µg/kg o 50 µg/kg, a medida que avanza el tratamiento.

Para agentes terapéuticos que comprenden células que expresan B7-H7, B7-H7CR, B7-H2, ICOS, CD28 o CTLA-4 en altas cantidades, el intervalo de dosificación adecuado mediante cualquier vía de administración puede ser de al menos 100, 200, 300, 400, 500, 700, 1.000, 5.000, 10.000, 25.000, 50.000 o 100.000 células. En realizaciones específicas, el número de células es de al menos 100, 200, 300, 400, 500 células. En otras realizaciones, el número de células es de al menos 300, 400, 500, 700, 1.000 células. En aún otras realizaciones específicas, el número de células es de al menos 700, 1.000, 5.000, 10.000 células. En algunas realizaciones, el número de células es de al menos 5.000, 10.000, 25.000, 50.000 o 100.000 células. En aún otra realización, el número de células es de al menos 50.000 o 100.000 células. En otras realizaciones, el número de células es de al menos  $1 \times 10^6$ ,  $5 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $5 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$ ,  $5 \times 10^8$  o más células. En realizaciones específicas, el número de células es de entre  $1 \times 10^4$  y  $1 \times 10^4$ ,  $5 \times 10^4$  y  $5 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^5$  y  $1 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^5$  y  $5 \times 10^8$ ,  $1 \times 10^6$  y  $1 \times 10^8$ , o  $1 \times 10^6$  y  $1 \times 10^7$  o  $1 \times 10^4$  y  $1 \times 10^5$  células.

En determinadas realizaciones, se le administra a un sujeto un agente terapéutico o composición del mismo en una cantidad eficaz para inhibir o reducir síntomas asociados con una enfermedad o trastorno en al menos el 25%, al menos el 30%, al menos el 35%, al menos el 40%, al menos el 45%, al menos el 50%, al menos el 55%, al menos el 60%, al menos el 65%, al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90% o al menos el 95% o de al menos el 20% al 25%, preferiblemente de al menos el 25% al 30%, de al menos el 30% al 35%, de al menos el 35% al 40%, de al menos el 40% al 45%, de al menos el 45% al 50%, de al menos el 50% al 55%, de al menos el 55% al 60%, de al menos el 60% al 65%, de al menos el 65% al 70%, de al menos el 70% al 75%, de al menos el 75% al 80%, o hasta al menos el 85% en relación con un control negativo tal como se determina usando un ensayo descrito en el presente documento u otros conocidos por un experto en la técnica. En determinadas realizaciones para tratar, se le administra a un sujeto un agente terapéutico o una composición del mismo en una cantidad eficaz para inhibir o reducir síntomas asociados con una enfermedad o trastorno en al menos 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 8 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, o de 2 a 5 veces, de 2 a 10 veces, de 5 a 10 veces o de 5 a 20 veces en relación con un control negativo tal como se determina usando un ensayo descrito en el presente documento u otro conocido por un experto en la técnica.

En determinadas realizaciones para tratar o gestionar una enfermedad infecciosa, se le administra a un sujeto un agente terapéutico inmunoestimulante o composición del mismo en una cantidad eficaz para inhibir o reducir la replicación de un agente infeccioso en de al menos el 20% al 25%, preferiblemente de al menos el 25% al 30%, de al menos el 30% al 35%, de al menos el 35% al 40%, de al menos el 40% al 45%, de al menos el 45% al 50%, de al menos el 50% al 55%, de al menos el 55% al 60%, de al menos el 60% al 65%, de al menos el 65% al 70%, de al menos el 70% al 75%, de al menos el 75% al 80%, o hasta al menos el 85% en relación con un control negativo tal como se determina usando un ensayo descrito en el presente documento u otros conocidos por un experto en la técnica. En determinadas realizaciones, se le administra a un sujeto un agente terapéutico inmunoestimulante o composición del mismo en una cantidad eficaz para inhibir o reducir la replicación de un agente infeccioso en al menos 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 8 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, o de 2 a 5 veces, de 2 a 10 veces, de 5 a 10 veces, o de 5 a 20 veces en relación con un control negativo tal como se determina usando un ensayo descrito en el presente documento u otros conocidos por un experto en la técnica. En otras realizaciones, se le administra a un sujeto un agente terapéutico inmunoestimulante o composición del mismo en una cantidad eficaz para inhibir o reducir la replicación de un agente infeccioso en al menos 1 log, 1,5 log, 2 log, 2,5 log, 3 log, 3,5 log, 4 log, 5 log o más en relación con un control negativo tal como se determina usando un ensayo descrito en el presente documento u otros conocidos por un experto en la técnica.

En determinadas realizaciones para prevenir, tratar y/o gestionar cáncer, se le administra a un sujeto un agente terapéutico inmunoestimulante o composición del mismo en una cantidad eficaz para inhibir o reducir el crecimiento tumoral o la proliferación de células cancerosas en de al menos el 20% al 25%, preferiblemente de al menos el 25% al 30%, de al menos el 30% al 35%, de al menos el 35% al 40%, de al menos el 40% al 45%, de al menos el 45% al 50%, de al menos el 50% al 55%, de al menos el 55% al 60%, de al menos el 60% al 65%, de al menos el 65% al 70%, de al menos el 70% al 75%, de al menos el 75% al 80%, o hasta al menos el 85% en relación con un control negativo tal como se determina usando un ensayo descrito en el presente documento u otros conocidos por un experto en la técnica. En algunas realizaciones, se le administra a un sujeto un agente terapéutico inmunoestimulante o composición del mismo en una cantidad eficaz para inhibir o reducir el crecimiento tumoral o la

proliferación de células cancerosas en al menos 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 8 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, o de 2 a 5 veces, de 2 a 10 veces, de 5 a 10 veces, o de 5 a 20 veces en relación con un control negativo tal como se determina usando un ensayo descrito en el presente documento u otros conocidos por un experto en la técnica.

5 En determinadas realizaciones para tratar o gestionar enfermedades autoinmunitarias o inflamatorias, se le administra a un sujeto un agente terapéutico inhibidor o composición del mismo en una cantidad eficaz para suprimir o reducir determinados aspectos de la función inmunitaria en de al menos el 20% al 25%, preferiblemente de al menos el 25% al 30%, de al menos el 30% al 35%, de al menos el 35% al 40%, de al menos el 40% al 45%, de al menos el 45% al 50%, de al menos el 50% al 55%, de al menos el 55% al 60%, de al menos el 60% al 65%, de al menos el 65% al 70%, de al menos el 70% al 75%, de al menos el 75% al 80%, o hasta al menos el 85% en relación con un control negativo tal como se determina usando un ensayo descrito en el presente documento u otros conocidos por un experto en la técnica. En algunas realizaciones, se le administra a un sujeto un agente terapéutico inhibidor o composición del mismo en una cantidad eficaz para suprimir o reducir determinados aspectos de la función inmunitaria en al menos 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 8 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, o de 2 a 5 veces, de 2 a 10 veces, de 5 a 10 veces, o de 5 a 20 veces en relación con un control negativo tal como se determina usando un ensayo descrito en el presente documento u otros conocidos por un experto en la técnica.

20 En determinadas realizaciones, se le administra a un sujeto un agente terapéutico inmunoestimulante o composición del mismo en una cantidad eficaz para inducir o potenciar una respuesta inmunitaria en de al menos el 20% al 25%, preferiblemente de al menos el 25% al 30%, de al menos el 30% al 35%, de al menos el 35% al 40%, de al menos el 40% al 45%, de al menos el 45% al 50%, de al menos el 50% al 55%, de al menos el 55% al 60%, de al menos el 60% al 65%, de al menos el 65% al 70%, de al menos el 70% al 75%, de al menos el 75% al 80%, o hasta al menos el 85% en relación con un control negativo tal como se determina usando un ensayo descrito en el presente documento u otros conocidos por un experto en la técnica. En algunas realizaciones, se le administra a un sujeto un agente terapéutico inmunoestimulante o composición del mismo en una cantidad eficaz para inducir o potenciar una respuesta inmunitaria en al menos 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 8 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, o de 2 a 5 veces, de 2 a 10 veces, de 5 a 10 veces, o de 5 a 20 veces en relación con un control negativo tal como se determina usando un ensayo descrito en el presente documento u otros conocidos por un experto en la técnica.

35 En determinadas realizaciones, se le administra a un sujeto un agente terapéutico inmunoestimulante o composición del mismo en una cantidad eficaz para aumentar o potenciar el número de linfocitos (en algunas realizaciones, en un compartimento corporal diana específico) en de al menos el 20% al 25%, preferiblemente de al menos el 25% al 30%, de al menos el 30% al 35%, de al menos el 35% al 40%, de al menos el 40% al 45%, de al menos el 45% al 50%, de al menos el 50% al 55%, de al menos el 55% al 60%, de al menos el 60% al 65%, de al menos el 65% al 70%, de al menos el 70% al 75%, de al menos el 75% al 80%, o hasta al menos el 85% en relación con un control negativo tal como se determina usando un ensayo descrito en el presente documento u otros conocidos por un experto en la técnica. En algunas realizaciones, se le administra a un sujeto un agente terapéutico inmunoestimulante o composición del mismo en una cantidad eficaz para aumentar o potenciar el número de linfocitos (en algunas realizaciones, en un compartimento corporal diana específico) en al menos 1,5 veces, al menos 2 veces, al menos 2,5 veces, al menos 3 veces, al menos 4 veces, al menos 5 veces, al menos 8 veces, al menos 10 veces, al menos 15 veces, o al menos 20 veces; o en de aproximadamente 2 a 5 veces, de 2 a 10 veces, de 5 a 10 veces o de 5 a 20 veces en relación con un control negativo tal como se determina usando un ensayo descrito en el presente documento u otros conocidos por un experto en la técnica. En algunas realizaciones, el compartimento corporal diana específico en donde el número de linfocitos se aumenta o se potencia mediante un agente terapéutico inmunoestimulante es el pulmón, el estómago, el corazón, el riñón, el hígado, el intestino delgado, el intestino grueso, la mama, la próstata o la vejiga. En realizaciones particulares, el compartimento corporal diana específico en donde el número de linfocitos se aumenta o se potencia es el compartimento corporal afectado por una enfermedad o trastorno (por ejemplo, cáncer o enfermedad infecciosa). En algunas realizaciones, el compartimento corporal diana específico en donde el número de linfocitos se aumenta o se potencia es el ganglio linfático, el bazo o la sangre periférica.

55 En determinadas realizaciones, se le administra a un sujeto un agente terapéutico inhibidor o composición del mismo en una cantidad eficaz para reducir el número de linfocitos (en algunas realizaciones, en un compartimento corporal diana específico) en de al menos el 20% al 25%, preferiblemente de al menos el 25% al 30%, de al menos el 30% al 35%, de al menos el 35% al 40%, de al menos el 40% al 45%, de al menos el 45% al 50%, de al menos el 50% al 55%, de al menos el 55% al 60%, de al menos el 60% al 65%, de al menos el 65% al 70%, de al menos el 70% al 75%, de al menos el 75% al 80%, o hasta al menos el 85% en relación con un control negativo tal como se determina usando un ensayo descrito en el presente documento u otros conocidos por un experto en la técnica. En algunas realizaciones, se le administra a un sujeto un agente terapéutico inhibidor o composición del mismo en una cantidad eficaz para reducir el número de linfocitos (en algunas realizaciones, en un compartimento corporal diana específico) en al menos 1,5 veces, al menos 2 veces, al menos 2,5 veces, al menos 3 veces, al menos 4 veces, al menos 5 veces, al menos 8 veces, al menos 10 veces, al menos 15 veces, o al menos 20 veces; o en de aproximadamente 2 a 5 veces, de 2 a 10 veces, de 5 a 10 veces o de 5 a 20 veces en relación con un control

- negativo tal como se determina usando un ensayo descrito en el presente documento u otros conocidos por un experto en la técnica. En algunas realizaciones, el compartimento corporal diana específico en donde el número de linfocitos se reduce mediante un agente terapéutico inhibidor es el pulmón, el estómago, el corazón, el riñón, el hígado, el intestino delgado, el intestino grueso, la mama, la próstata o la vejiga. En realizaciones particulares, el compartimento corporal diana específico en donde el número de linfocitos se aumenta o se potencia es el compartimento corporal afectado por una enfermedad o trastorno (por ejemplo, cáncer o enfermedad infecciosa). En algunas realizaciones, el compartimento corporal diana específico en donde el número de linfocitos se aumenta o se potencia es el ganglio linfático, el bazo o la sangre periférica.
- En determinadas realizaciones, se administra una dosis de un agente terapéutico o composición del mismo a un sujeto cada día, un día sí y otro no, cada par de días, cada tres días, una vez a la semana, dos veces a la semana, tres veces a la semana o una vez cada dos semanas. En otras realizaciones, se administran dos, tres o cuatro dosis de un agente terapéutico o composición del mismo a un sujeto cada día, cada par de días, cada tres días, una vez a la semana o una vez cada dos semanas. En algunas realizaciones, se administra(n) una(s) dosis de un agente terapéutico o composición del mismo durante 2 días, 3 días, 5 días, 7 días, 14 días o 21 días. En determinadas realizaciones, se administra una dosis de un agente terapéutico o composición del mismo durante 1 mes, 1,5 meses, 2 meses, 2,5 meses, 3 meses, 4 meses, 5 meses, 6 meses o más.

Las dosificaciones de agentes profilácticos o terapéuticos que se han usado o se usan actualmente para la prevención, el tratamiento y/o la gestión de una enfermedad o trastorno, tal como, por ejemplo, cáncer, enfermedad infecciosa, enfermedad autoinmunitaria e inflamatoria y rechazo de trasplante, pueden determinarse usando referencias disponibles para un médico tal como, por ejemplo, el Physicians' Desk Reference (63<sup>a</sup> ed. 2009). Preferiblemente, se utilizan dosificaciones inferiores a las que se han usado o están usándose actualmente para prevenir, tratar y/o gestionar la enfermedad o trastorno en combinación con uno o más agentes terapéuticos o composiciones de los mismos.

Los programas de administración descritos anteriormente se proporcionan para fines ilustrativos sólo y no deben considerarse limitativos. Un experto habitual en la técnica comprenderá fácilmente que todas las dosis están dentro del alcance de la invención.

## 5.9 ENSAYOS BIOLÓGICOS

### 5.9.1 Ensayos para evaluar las características de unión de agentes terapéuticos

Pueden evaluarse agentes terapéuticos que se unen específicamente al B7-H7, B7-H7CR o un complejo de B7-H7 y B7-H7CR, usando cualquier método bien conocido en la técnica, por ejemplo, ELISA, coimmunoprecipitación, ensayos Biacore y ensayos KinEx A.

Pueden usarse ensayos de unión para determinar la afinidad de unión de un agente terapéutico por B7-H7, B7-H7CR, o un complejo de B7-H7 y B7-H7CR. Pueden realizarse ensayos de unión o bien como ensayos de unión directa o bien como ensayos de unión de competición. La unión puede detectarse usando ensayos ELISA convencionales o de citometría de flujo convencionales. En un ensayo de unión directa, se somete a prueba un agente terapéutico para determinar la unión al B7-H7, B7-H7CR, o un complejo de B7-H7 y B7-H7CR, o B7-H2 y o bien ICOS, CD28 o bien CTLA-4.

Los ensayos de unión de competición, por otro lado, evalúan la capacidad de un agente terapéutico para competir con un agente conocido (por ejemplo, anticuerpos u otro compuesto) que se une a B7-H7, B7-H7CR, o un complejo de B7-H7 y B7-H7CR.

En un ensayo de unión directa, se pone en contacto B7-H7, B7-H7CR, o un complejo de B7-H7 y B7-H7CR con un agente terapéutico en condiciones que permiten la unión del agente terapéutico al B7-H7, B7-H7CR, o un complejo de B7-H7 y B7-H7CR+. La unión puede tener lugar en disolución o sobre una superficie sólida. Preferiblemente, el anticuerpo candidato se marca previamente para su detección. Puede usarse cualquier compuesto detectable para el marcaje, tal como pero sin limitarse a, un isótopo luminiscente, fluorescente o radioactivo o grupo que contiene el mismo, o un marcador no isotópico, tal como una enzima o colorante. Tras un periodo de incubación suficiente para que tenga lugar la unión, se expone la reacción a condiciones y manipulaciones que eliminan el anticuerpo en exceso o no específicamente unido. Normalmente, implica lavar con un tampón apropiado. Finalmente, se detecta la presencia de un agente terapéutico unido a B7-H7, B7-H7CR, o un complejo de B7-H7 y B7-H7CR.

En un ensayo de unión de competición, se evalúa un agente terapéutico para determinar su capacidad para inhibir o desplazar la unión de un agente conocido (por ejemplo, un anticuerpo u otro compuesto) al B7-H7, B7-H7CR, o un complejo de B7-H7 y B7-H7CR. Puede mezclarse un agente de unión conocido marcado de B7-H7, B7-H7CR, o un complejo de B7-H7 y B7-H7CR, y colocarse en condiciones en las que la interacción entre ellos se produciría normalmente, con y sin la adición del agente terapéutico. La cantidad de agente de unión conocido marcado que se une al B7-H7, B7-H7CR o un complejo de B7-H7 y B7-H7CR puede compararse con la cantidad unida en presencia o ausencia del agente terapéutico.

En una realización, el ensayo de unión se lleva a cabo con uno o más componentes inmovilizados sobre una superficie sólida para facilitar la formación y detección de complejos de anticuerpo-antígeno. En diversas realizaciones, el soporte sólido podría ser, pero no se restringe a, policarbonato, poliestireno, polipropileno, polietileno, vidrio, nitrocelulosa, dextrano, nailon, poli(acrilamida) y agarosa. La configuración del soporte puede incluir perlas, membranas, micropartículas, la superficie interior de un recipiente de reacción tal como una placa de microtitulación, tubo de ensayo u otro recipiente de reacción. La inmovilización de B7-H7, B7-H7CR, o un complejo de B7-H7 y B7-H7CR, u otro componente, puede lograrse a través de uniones covalentes o no covalentes. En una realización, la unión puede ser indirecta, es decir, a través de un anticuerpo unido. En otra realización, el B7-H7, B7-H7CR, o un complejo de B7-H7 y B7-H7CR y controles negativos se etiquetan con un epítipo, tal como glutatión S-transferasa (GST) de modo que la unión a la superficie sólida puede estar mediada por un anticuerpo disponible comercialmente tal como anti-GST (Santa Cruz Biotechnology).

Por ejemplo, un ensayo de unión de afinidad de este tipo puede realizarse usando el B7-H7, B7-, o un complejo de B7-H7 y B7-H7CR que se inmoviliza en un soporte sólido. Normalmente, el componente no inmovilizado de la reacción de unión, en este caso el agente terapéutico, se marca para permitir la detección. Están disponibles una variedad de métodos de marcaje y pueden usarse, tal como un agente luminiscente, cromóforo, fluorescente o isótopo radiactivo o grupo que contiene el mismo, y marcadores anisotópicos, tales como enzimas o colorantes. En una realización, el agente terapéutico se marca con un fluoróforo tal como isotiocianato de fluoresceína (FITC, disponible de Sigma Chemicals, St. Louis). Un ensayo de unión de afinidad de este tipo puede realizarse usando el B7-H7, B7-H7CR, o un complejo de B7-H7 y B7-H7CR inmovilizado sobre una superficie sólida. Entonces se incuban agentes terapéuticos con el B7-H7, B7-H7CR o un complejo de B7-H7 y B7-H7CR y se detecta la unión específica de agentes terapéuticos mediante métodos conocidos en la técnica incluyendo, pero sin limitarse a, análisis BiaCore, métodos de ELISA, FMET y RIA.

Finalmente, el marcador que queda sobre la superficie sólida puede detectarse mediante cualquier método de detección conocido en la técnica. Por ejemplo, si el agente terapéutico está marcado con un fluoróforo, puede usarse un fluorímetro para detectar complejos.

En una realización, el agente terapéutico se añade a células intactas que expresan B7-H7, B7-H7CR, B7-H2, o membranas aisladas que contienen B7-H7, B7-H7CR. Por tanto, puede someterse a ensayo la unión directa de un agente terapéutico en células intactas en cultivo o en modelos animales. Puede mezclarse un agente terapéutico marcado con células que expresan B7-H7 o B7-H7CR, o con extractos en bruto obtenidos a partir de tales células. Pueden usarse membranas aisladas para identificar agentes terapéuticos que interaccionan con B7-H7 o B7-H7CR. Por ejemplo, en un experimento típico usando membranas aisladas, pueden modificarse por ingeniería genética células para que expresen B7-H7 o B7-H7CR. Pueden recogerse membranas mediante técnicas convencionales y usarse en un ensayo de unión *in vitro*. El agente terapéutico marcado (por ejemplo, anticuerpo marcado fluorescente) se une a las membranas y se somete a ensayo para determinar su actividad específica; se determina la unión específica mediante comparación con ensayos de unión realizados en presencia de agente terapéutico no marcado (frío) en exceso. Alternativamente, puede expresarse de manera recombinante B7-H7 o B7-H7CR soluble y utilizarse en ensayos no basados en células para identificar agentes terapéuticos que se unen a B7-H7 o B7-H7CR.

Alternativamente, la reacción de unión puede llevarse a cabo en disolución. En este ensayo, se permite que el componente marcado interaccione con su(s) pareja(s) de unión en disolución. Si las diferencias de tamaño entre el componente marcado y su(s) pareja(s) de unión permiten una separación de este tipo, la separación puede lograrse haciendo pasar los productos de la reacción de unión a través de un ultrafiltro cuyos poros permiten el paso de componente marcado no unido pero no de su(s) pareja(s) de unión o de componente marcado unido a su(s) pareja(s). La separación puede lograrse también usando cualquier reactivo capaz de capturar una pareja de unión del componente marcado de la disolución, tal como un anticuerpo contra la pareja de unión y así sucesivamente.

Diversos métodos descritos anteriormente o conocidos en la técnica pueden adaptarse para someter a ensayo la afinidad de unión de un agente terapéutico por B7-H7, B7-H7CR o un complejo de B7-H7 y B7-H7CR.

#### 5.9.2 Ensayos para evaluar la función de los agentes terapéuticos

Pueden usarse diversos ensayos conocidos en la técnica para evaluar si un agente terapéutico activa, potencia, suprime o reduce la función inmunitaria. En un aspecto, el agente terapéutico aumenta una respuesta inmunitaria que puede ser, por ejemplo, una respuesta de anticuerpos (respuesta humoral) o una respuesta inmunitaria celular, por ejemplo, secreción de citocinas (por ejemplo, interferón-gamma), actividad auxiliar o citotoxicidad celular. En una realización, la respuesta inmunitaria aumentada es aumento de la secreción de citocinas, producción de anticuerpos, función efectora, proliferación de células T y/o proliferación de células NK. En otro aspecto, el agente terapéutico suprime una respuesta inmunitaria que puede ser, por ejemplo, una respuesta de anticuerpos (respuesta humoral) o una respuesta inmunitaria celular, por ejemplo, secreción de citocinas (por ejemplo, interferón-gamma), actividad auxiliar o citotoxicidad celular. En una realización, la respuesta inmunitaria disminuida es disminución de la secreción de citocinas, producción de anticuerpos, función efectora, proliferación de células T y/o proliferación de células NK. Se conocen bien en la técnica diversos ensayos para medir tales actividades, y se proporcionan a continuación

descripciones a modo de ejemplo de tales ensayos.

La proliferación de determinadas células inmunitarias puede evaluarse mediante la incorporación de  $^3\text{H}$ -timidina. Puede usarse el ensayo de "tinción de tetrámeros" (Altman *et al.*, 1996, Science 274: 94-96) para identificar células T específicas de antígeno y para evaluar cómo los agentes terapéuticos modulan (por ejemplo, activan, potencian, reducen o suprimen) respuestas de células T específicas de antígeno. Por ejemplo, una molécula de CMH que contiene un antígeno peptídico específico, tal como un antígeno específico de tumor, se multimeriza para preparar tetrámeros peptídicos solubles y se marca, por ejemplo, mediante complejación con estreptavidina. El complejo de CMH-antígeno peptídico se mezcla entonces con una población de células T obtenidas de un sujeto al que se le ha administrado una composición inmunogénica sola o en combinación con un agente terapéutico. Entonces se usa biotina para teñir células T que expresan el antígeno específico de tumor de interés.

Además, usando el ensayo de cultivo diana de linfocitos mixtos, la citotoxicidad de las células T puede someterse a prueba en un ensayo de liberación de  $^{51}\text{Cr}$  tal como se describe, por ejemplo, en Palladino *et al.*, 1987, Cancer Res. 47:5074-5079. En resumen, el cultivo de linfocitos mixtos se añade a una suspensión de células diana para dar diferentes razones de efector:diana (E:T) (habitualmente de 1:1 a 40:1). Las células diana se marcan previamente incubando  $1 \times 10^6$  células diana en medio de cultivo que contiene 500  $\mu\text{Ci}$  de  $^{51}\text{Cr}$  por ml durante una hora a  $37^\circ\text{C}$ . Se lavan las células tres veces tras el marcaje. Cada punto del ensayo (razón de E:T) se realiza por triplicado y se incorporan los controles apropiados para medir la liberación de  $^{51}\text{Cr}$  espontánea (sin linfocitos añadidos al ensayo) y el 100% de liberación (células lisadas con detergente). Tras incubar las mezclas de células durante 4 horas, se sedimentan las células mediante centrifugación a 200 g durante 5 minutos. Se mide la cantidad de  $^{51}\text{Cr}$  liberada en el sobrenadante mediante un contador gamma. Se mide el porcentaje de citotoxicidad como cpm en la muestra de prueba menos las cpm liberadas espontáneamente divididas entre las cpm liberadas por el detergente totales menos las cpm liberadas espontáneamente.

Puede usarse un ensayo de ELISPOT para medir la liberación de citocinas *in vitro* por células T tras la administración de una cantidad eficaz de un agente terapéutico a un sujeto. La liberación de citocinas se detecta mediante anticuerpos que son específicos para una citocina particular, por ejemplo, interleucina-2, factor de necrosis tumoral- $\alpha$  o interferón- $\gamma$  (véase, por ejemplo, Scheibenbogen *et al.*, 1997, Int. J. Cancer 71:932-936). El ensayo se lleva a cabo en una placa de microtitulación que se ha recubierto previamente con un anticuerpo específico para una citocina de interés que captura la citocina secretada por las células T. Tras la incubación de células T durante 24-48 horas en los pocillos recubiertos, se eliminan las células T y se reemplazan por un segundo anticuerpo marcado que reconoce un epítipo diferente sobre la citocina. Tras un lavado extenso para eliminar el anticuerpo no unido, se añade a la placa un sustrato enzimático que produce un producto de reacción coloreado. Se cuenta el número de células productoras de citocinas bajo un microscopio. Este método tiene las ventajas de un tiempo de ensayo corto, y sensibilidad sin la necesidad de un gran número de células T citotóxicas.

En realizaciones específicas, los ensayos descritos en los ejemplos 6 y 7, más adelante, pueden usarse para evaluar el efecto de un agente terapéutico sobre la función inmunitaria. Por ejemplo, el efecto de un agente terapéutico sobre la función inmunitaria puede evaluarse usando el ensayo de coestimulación de células T descrito en los ejemplos 6 y 7 más adelante.

Se conocen bien en la técnica ensayos de inmunoabsorción ligados a enzimas (ELISA) y se describen, por ejemplo, en la sección 2.1 de Current Protocols in Immunology, Coligan *et al.* (eds.), John Wiley y Sons, Inc. 1997.

En algunos aspectos, la respuesta inmunitaria inducida o potenciada por un agente terapéutico inmunoestimulante se potencia o se aumenta en al menos el 10%, el 15%, el 20%, el 25%, el 30%, el 40%, el 50%, el 60%, el 70%, el 75%, el 80%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 10% y el 25%, el 10% y el 50%, el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 50% y el 75%, el 50% y el 90%, el 75% y el 90%, el 75% y el 100% en relación con una respuesta inmunitaria provocada por un control negativo tal como se determina mediante cualquier ensayo conocido en la técnica. En determinadas realizaciones, la respuesta inmunitaria inducida por el agente terapéutico inmunoestimulante se potencia en al menos 0,5-2 veces, al menos 2-5 veces, al menos 5-10 veces, al menos 10-50 veces, al menos 50-100 veces, al menos 100-200 veces, al menos 200-300 veces, al menos 300-400 veces o al menos 400-500 veces en relación con la respuesta inmunitaria inducida por un control negativo tal como se somete a ensayo mediante cualquier método conocido en la técnica. En realizaciones específicas, el ensayo usado para evaluar la respuesta inmunitaria mide el nivel de producción de anticuerpos, producción de citocinas o citotoxicidad celular, y tales ensayos se conocen bien en la técnica. En algunas realizaciones, el ensayo usado para medir la respuesta inmunitaria es un ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) que determina los niveles de anticuerpo o citocina, un ensayo de ELISPOT que determina la liberación de citocinas o un ensayo de liberación de  $^{51}\text{Cr}$  que determina la citotoxicidad celular.

En realizaciones específicas, el agente terapéutico inmunoestimulante induce o potencia una respuesta inmunitaria en un sujeto que se mide mediante el título de anticuerpos en el suero del sujeto, y el título de anticuerpos es de al menos 0,2 a 5 veces, de 5 a 20 veces, de 10 a 30 veces, de 20 a 50 veces, de 50 a 200 veces, de 100 a 500, de 200 a 1000 veces o 500 a 2.000 veces superior en comparación con el título de anticuerpos en el suero de un sujeto al que se le ha administrado un control negativo. En realizaciones específicas, el título de anticuerpos en suero medio

contra el antígeno en el sujeto al que se le ha administrado el agente terapéutico inmunoestimulante aumenta en al menos 0,5-2 veces, al menos 2-5 veces, al menos 5-10 veces, al menos 10-50 veces, al menos 50-100 veces, al menos 100-200 veces, al menos 200-300 veces, al menos 300-400 veces o al menos 400-500 veces en relación con el título de anticuerpos en suero medio en el sujeto al que se le ha administrado un control negativo tal como se determina mediante métodos bien conocidos en la técnica.

En otra realización específica, se presentan en el presente documento métodos de administración de agentes terapéuticos inmunoestimulantes para modular el nivel de producción o secreción de citocinas en comparación con el nivel de producción o secreción de citocinas en una muestra de control negativo.

En una realización específica, se presentan en el presente documento métodos de administración de agentes terapéuticos inmunoestimulantes para inducir o potenciar el nivel de producción o secreción de citocinas, por ejemplo, interferón- $\gamma$ , (que puede ser de 0,5 a 500 veces superior) en comparación con el nivel de producción o secreción de citocinas en una muestra de control negativo. En realizaciones específicas, el agente terapéutico inmunoestimulante induce o potencia una respuesta inmunitaria que se mide por una liberación de citocinas aumentada, y la concentración de citocinas es de al menos 0,2 a 5 veces, de 5 a 20 veces, de 10 a 30 veces, de 20 a 50 veces, de 50 a 200 veces, de 100 a 500, de 200 a 1000 veces, o de 500 a 2.000 veces superior en comparación con la concentración de citocinas de un control negativo. En realizaciones específicas, la concentración de citocinas en suero media de muestras obtenidas de un sujeto al que se le ha administrado el agente terapéutico inmunoestimulante aumenta en al menos 0,5-2 veces, al menos 2-5 veces, al menos 5-10 veces, al menos 10-50 veces, al menos 50-100 veces, al menos 100-200 veces, al menos 200-300 veces, al menos 300-400 veces o al menos 400-500 veces en relación con la concentración de citocinas en suero media de muestras obtenidas de un sujeto al que se le ha administrado un control negativo tal como se determina mediante métodos bien conocidos en la técnica. En algunas realizaciones, el control negativo puede ser muestras del sujeto antes de la administración del agente terapéutico inmunoestimulante.

En una realización específica, se presentan en el presente documento métodos de administración de agentes terapéuticos inmunoestimulantes para disminuir el nivel de producción o secreción de citocinas en comparación con el nivel de producción o secreción de citocinas en una muestra de control negativo. En realizaciones específicas, el agente terapéutico inmunoestimulante induce o potencia una respuesta inmunitaria que se mide por una liberación de citocinas disminuida, y la concentración de citocinas es de al menos 0,2 a 5 veces, de 5 a 20 veces, de 10 a 30 veces, de 20 a 50 veces, de 50 a 200 veces, de 100 a 500, de 200 a 1000 veces o de 500 a 2.000 veces inferior en comparación con la concentración de citocinas de un control negativo. En realizaciones específicas, la concentración de citocinas en suero media de muestras obtenidas de un sujeto al que se le ha administrado el agente terapéutico inmunoestimulante disminuye en al menos 0,5-2 veces, al menos 2-5 veces, al menos 5-10 veces, al menos 10-50 veces, al menos 50-100 veces, al menos 100-200 veces, al menos 200-300 veces, al menos 300-400 veces o al menos 400-500 veces en relación con la concentración de citocinas en suero media de muestras obtenidas de un sujeto al que se le ha administrado un control negativo tal como se determina mediante métodos bien conocidos en la técnica. En algunas realizaciones, el control negativo puede ser muestras del sujeto antes de la administración del agente terapéutico inmunoestimulante.

En realizaciones específicas, el agente terapéutico inmunoestimulante induce o potencia la proliferación de células NK en un sujeto en al menos de 0,2 a 5 veces, de 5 a 20 veces, de 10 a 30 veces, de 20 a 50 veces, de 50 a 200 veces, de 100 a 500, de 200 a 1000 veces o de 500 a 2.000 veces superior en relación con la proliferación de células NK en un control negativo. En realizaciones específicas, el agente terapéutico agonista induce o potencia la proliferación de células T en un sujeto en al menos de 0,2 a 5 veces, de 5 a 20 veces, de 10 a 30 veces, de 20 a 50 veces, de 50 a 200 veces, de 100 a 500, de 200 a 1000 veces o de 500 a 2.000 veces superior en relación con la proliferación de células T en un control negativo tal como se determina mediante métodos bien conocidos en la técnica, por ejemplo, citometría de flujo, tinción con CFSE, incorporación de 3H-timidina.

El aumento en la respuesta inmunitaria de anticuerpos (humoral) o celular inducida por una cantidad eficaz del agente terapéutico puede evaluarse usando diversos métodos bien conocidos en la técnica.

En algunos aspectos, la respuesta inmunitaria suprimida por un agente terapéutico inhibidor se reduce en al menos el 10%, el 15%, el 20%, el 25%, el 30%, el 40%, el 50%, el 60%, el 70%, el 75%, el 80%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99%, o en el intervalo de entre el 10% y el 25%, el 10% y el 50%, el 25% y el 50%, el 25% y el 75%, el 50% y el 75%, el 50% y el 90%, el 75% y el 90%, el 75% y el 100% en relación con una respuesta inmunitaria provocada por un control negativo tal como se determina mediante cualquier ensayo conocido en la técnica. En determinadas realizaciones, la respuesta inmunitaria reducida por el agente terapéutico inhibidor se potencia en al menos 0,5-2 veces, al menos 2-5 veces, al menos 5-10 veces, al menos 10-50 veces, al menos 50-100 veces, al menos 100-200 veces, al menos 200-300 veces, al menos 300-400 veces o al menos 400-500 veces en relación con la respuesta inmunitaria inducida por un control negativo tal como se somete a ensayo mediante cualquier método conocido en la técnica. En realizaciones específicas, el ensayo usado para evaluar la respuesta inmunitaria mide el nivel de producción de anticuerpos, producción de citocinas o citotoxicidad celular, y tales ensayos se conocen bien en la técnica. En algunas realizaciones, el ensayo usado para medir la respuesta inmunitaria es un ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) que determina los niveles de anticuerpos o citocinas, un ensayo de

ELISPOT que determina la liberación de citocinas o un ensayo de liberación de <sup>51</sup>Cr que determina la citotoxicidad celular.

5 En realizaciones específicas, el agente terapéutico inhibidor reduce una respuesta inmunitaria en un sujeto que se mide mediante el título de anticuerpos en el suero del sujeto, y el título de anticuerpos es de al menos 0,2 a 5 veces, de 5 a 20 veces, de 10 a 30 veces, de 20 a 50 veces, de 50 a 200 veces, de 100 a 500, de 200 a 1000 veces o de 500 a 2.000 veces superior en comparación con el título de anticuerpos en el suero de un sujeto al que se le ha administrado un control negativo. En realizaciones específicas, el título de anticuerpos en suero medio contra el antígeno en el sujeto al que se le ha administrado el agente terapéutico inhibidor disminuye en al menos 0,5-2  
10 veces, al menos 2-5 veces, al menos 5-10 veces, al menos 10-50 veces, al menos 50-100 veces, al menos 100-200 veces, al menos 200-300 veces, al menos 300-400 veces o al menos 400-500 veces en relación con título de anticuerpos en suero medio en el sujeto al que se le ha administrado un control negativo tal como se determina mediante métodos bien conocidos en la técnica.

15 En otra realización específica, se presentan en el presente documento métodos de administración de agentes terapéuticos inhibidores para modular el nivel de producción o secreción de citocinas en comparación con el nivel de producción o secreción de citocinas en una muestra de control negativo.

20 En otra realización específica, se presentan en el presente documento métodos de administración de agentes terapéuticos inhibidores para disminuir el nivel de producción o secreción de citocinas, por ejemplo, interferón- $\gamma$ , (que puede ser de 0,5 a 500 veces superior) en comparación con el nivel de producción o secreción de citocinas en una muestra de control negativo. En realizaciones específicas, el agente terapéutico inhibidor reduce una respuesta inmunitaria que se mide por una liberación de citocinas disminuida, y la concentración de citocinas es de al menos 0,2 a 5 veces, de 5 a 20 veces, de 10 a 30 veces, de 20 a 50 veces, de 50 a 200 veces, de 100 a 500, de 200 a 1000 veces o de 500 a 2.000 veces inferior en comparación con la concentración de citocinas de un control negativo.  
25 En realizaciones específicas, la concentración de citocinas en suero media de muestras obtenidas de un sujeto al que se le ha administrado el agente terapéutico inhibidor disminuye en al menos 0,5-2 veces, al menos 2-5 veces, al menos 5-10 veces, al menos 10-50 veces, al menos 50-100 veces, al menos 100-200 veces, al menos 200-300 veces, al menos 300-400 veces o al menos 400-500 veces en relación con la concentración de citocinas en suero  
30 media de muestras obtenidas de un sujeto al que se le ha administrado un control negativo tal como se determina mediante métodos bien conocidos en la técnica. En algunas realizaciones, el control negativo puede ser muestras del sujeto antes de la administración del agente terapéutico inhibidor.

35 En otra realización específica, se presentan en el presente documento métodos de administración de agentes terapéuticos inhibidores para inducir o potenciar el nivel de producción o secreción de citocinas en comparación con el nivel de producción o secreción de citocinas en una muestra de control negativo. En realizaciones específicas, el agente terapéutico inhibidor induce o potencia una respuesta inmunitaria que se mide mediante una liberación de citocinas aumentada, y la concentración de citocinas es de al menos 0,2 a 5 veces, de 5 a 20 veces, de 10 a 30 veces, de 20 a 50 veces, de 50 a 200 veces, de 100 a 500, de 200 a 1000 veces o de 500 a 2.000 veces superior en  
40 comparación con la concentración de citocinas de un control negativo. En realizaciones específicas, la concentración de citocinas en suero media de muestras obtenidas de un sujeto al que se le ha administrado el agente terapéutico inhibidor aumenta en al menos 0,5-2 veces, al menos 2-5 veces, al menos 5-10 veces, al menos 10-50 veces, al menos 50-100 veces, al menos 100-200 veces, al menos 200-300 veces, al menos 300-400 veces o al menos 400-  
45 500 veces en relación con la concentración de citocinas en suero media de muestras obtenidas de un sujeto al que se le ha administrado un control negativo tal como se determina mediante métodos bien conocidos en la técnica. En algunas realizaciones, el control negativo puede ser muestras del sujeto antes de la administración del agente terapéutico inhibidor.

50 En realizaciones específicas, el agente terapéutico inhibidor reduce la proliferación de células NK en un sujeto en al menos de 0,2 a 5 veces, de 5 a 20 veces, de 10 a 30 veces, de 20 a 50 veces, de 50 a 200 veces, de 100 a 500, de 200 a 1000 veces o de 500 a 2.000 veces superior en relación con la proliferación de células NK en un control negativo. En realizaciones específicas, el agente terapéutico inhibidor reduce la proliferación de células T en un  
55 sujeto en de al menos 0,2 a 5 veces, de 5 a 20 veces, de 10 a 30 veces, de 20 a 50 veces, de 50 a 200 veces, de 100 a 500, de 200 a 1000 veces o de 500 a 2.000 veces superior en relación con la proliferación de células T en un control negativo tal como se determina mediante métodos bien conocidos en la técnica, por ejemplo, citometría de flujo, tinción con CSFE, incorporación de 3H-timidina.

### 5.9.3 Ensayos de citotoxicidad

60 La toxicidad y/o eficacia de las terapias descritas en el presente documento puede determinarse mediante procedimientos farmacéuticos convencionales en cultivos celulares o animales experimentales, por ejemplo, para determinar la DL50 (la dosis letal para el 50% de la población) y la DE50 (la dosis terapéuticamente eficaz en el 50% de la población). La razón de dosis entre efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico y puede expresarse como la razón DL50/DE50. Se prefieren terapias que presentan índices terapéuticos grandes. Aunque pueden  
65 usarse terapias que presentan efectos secundarios tóxicos, debe tenerse cuidado para diseñar un sistema de administración que dirija tales agentes al sitio de tejido afectado con el fin de minimizar el posible daño a células no

infectadas y, de ese modo, reducir los efectos secundarios.

Los datos obtenidos a partir de los ensayos de cultivo celular y estudios con animales pueden usarse en la formulación de un intervalo de dosificación de los agentes profilácticos y/o terapéuticos para su uso en seres humanos. La dosificación de tales agentes se encuentra preferiblemente dentro de un intervalo de concentraciones circulantes que incluyen la DE50 con poca o ninguna toxicidad. La dosificación puede variar dentro de este intervalo dependiendo de la forma de dosificación empleada y la vía de administración utilizada. Para cualquier terapia usada en el método, por ejemplo, tal como se describe en el presente documento, la dosis terapéuticamente eficaz puede estimarse inicialmente a partir de ensayos de cultivo celular. Puede formularse una dosis en modelos animales para lograr un intervalo de concentración en plasma circulante que incluye la CI50 (es decir, la concentración del agente terapéutico que logra la mitad de la inhibición máxima de los síntomas) tal como se determina en cultivo celular. Tal información puede usarse para determinar de manera más precisa dosis útiles en seres humanos. Los niveles en plasma pueden medirse, por ejemplo, mediante cromatografía de líquidos de alta resolución.

En determinadas realizaciones, la citotoxicidad de un agente terapéutico puede determinarse midiendo el nivel de apoptosis de células en un cultivo celular expuesto al agente terapéutico. En una realización, la apoptosis puede cuantificarse midiendo la fragmentación del ADN. Están disponibles métodos fotométricos comerciales para la determinación *in vitro* cuantitativa de la fragmentación del ADN. Ejemplos de tales ensayos, incluyendo ensayos basados en TUNEL (que detecta la incorporación de nucleótidos marcados en ADN fragmentados) y ELISA, se describen en *Biochemica*, 1999, n.º 2, págs. 34-37 (Roche Molecular Biochemicals). En aún otra realización, la apoptosis puede observarse morfológicamente.

Las líneas celulares sobre las que pueden realizarse tales ensayos las conocen bien los expertos en la técnica. También pueden realizarse ensayos de apoptosis, necrosis y proliferación en células primarias, por ejemplo, un explante tisular.

#### 5.9.4 Modelos animales

Los agentes terapéuticos se someten a ensayo preferiblemente *in vivo* para detectar la actividad terapéutica o profiláctica deseada antes de su uso en seres humanos. Por ejemplo, en una realización, un agente terapéutico puede administrarse al animal al mismo tiempo que la aparición de una enfermedad o trastorno en el animal. En otra realización, un agente terapéutico puede administrarse al animal antes de la aparición de una enfermedad o trastorno en el animal. En otra realización, un agente terapéutico puede administrarse al animal posteriormente a la aparición de una enfermedad o trastorno en el animal. En una realización específica, el agente terapéutico se administra al animal más de una vez. En otra realización específica, el agente terapéutico se administra en combinación con otra terapia.

Los agentes terapéuticos pueden someterse a prueba en sistemas de modelos animales incluyendo, pero sin limitarse a, ratas, ratones, pollos, vacas, monos, cerdos, cabras, ovejas, perros, conejos, cobayas, etc. En una realización específica, los agentes terapéuticos se someten a prueba en un sistema de modelo de ratón. Tales sistemas de modelo se usan ampliamente y los conoce bien el experto en la técnica. En una realización específica, los agentes terapéuticos se someten a prueba en animales deficientes para la restauración de la función. Por ejemplo, puede usarse un animal deficiente en B7-H2 para someter a prueba la restauración de determinadas funciones relacionadas con B7-H2 por determinados agentes terapéuticos.

La actividad anticancerígena del agente terapéutico puede determinarse usando diversos modelos animales experimentales para el estudio del cáncer bien conocidos en la técnica tal como se describe en, por ejemplo, *Relevance of Tumor Models for Anticancer Drug Development* (1999, eds. Fiebig y Burger); *Contributions to Oncology* (1999, Karger); *The Nude Mouse in Oncology Research* (1991, eds. Boven y Winograd); y *Anticancer Drug Development Guide* (1997 ed. Teicher), incorporados en el presente documento como referencia en su totalidad.

Los modelos animales para cáncer pueden usarse para evaluar la eficacia de un agente terapéutico, una composición del mismo o una terapia de combinación que comprende un agente terapéutico. Los ejemplos no limitativos de modelos animales para cáncer de pulmón incluyen, pero no se limitan a, modelos animales de cáncer de pulmón descritos por Zhang & Roth (1994, *In vivo* 8(5):755-69) y un modelo de ratón transgénico con función de p53 alterada (véase, por ejemplo, Morris *et al.*, 1998, *J La State Med Soc* 150(4):179-85). Un ejemplo de un modelo animal para cáncer de mama incluye, pero no se limita a, un ratón transgénico que sobreexpresa ciclina D1 (véase, por ejemplo, Hosokawa *et al.*, 2001, *Transgenic Res* 10(5):471-8). Un ejemplo de un modelo animal para cáncer de colon incluye, pero no se limita a, un ratón deficiente doble en TCR- $\gamma$  y p53 (véase, por ejemplo, Kado *et al.*, 2001, *Cancer Res* 61(6):2395-8). Los ejemplos de modelos animales para cáncer pancreático incluyen, pero no se limitan a, un modelo metastásico de adenocarcinoma pancreático murino Panc02 (véase, por ejemplo, Wang *et al.*, 2001, *Int J Pancreatol* 29(1):37-46) y ratones nu-nu generados en tumores pancreáticos subcutáneos (véase, por ejemplo, Ghaneh *et al.*, 2001, *Gene Ther* 8(3):199-208). Los ejemplos de modelos animales para linfoma no Hodgkin incluyen, pero no se limitan a, un ratón con inmunodeficiencia combinada grave ("SCID") (véase, por ejemplo, Bryant *et al.*, 2000, *Lab Invest* 80(4):553-73) y un ratón transgénico IgHmu-HOX11 (véase, por ejemplo, Hough *et al.*, 1998, *Proc Natl Acad Sci USA* 95(23): 13853-8). Un ejemplo de un modelo animal para cáncer esofágico incluye, pero no

se limita a, un ratón transgénico para el oncogén E7 del virus del papiloma humano tipo 16 (véase, por ejemplo, Herber *et al.*, 1996, *J Virol* 70(3):1873-81). Los ejemplos de modelos animales para carcinomas colorrectales incluyen, pero no se limitan a, modelos de ratón Apc (véase, por ejemplo, Fodde & Smits, 2001, *Trends Mol Med* 7(8):369-73 y Kuraguchi *et al.*, 2000, *Oncogene* 19(50):5755-63).

5 Para modelos animales de enfermedades infecciosas, la eficacia de un agente terapéutico en relación con un control negativo puede evaluarse en animales infectados con virus. Pueden someterse a prueba muestras obtenidas de estos animales (por ejemplo, muestra de suero, orina, esputos, semen, saliva, plasma o tejido) para determinar la  
10 potenciación de la función inmunitaria, por ejemplo, potenciación de la liberación de citocinas, potenciación de la producción de anticuerpos, proliferación de células T, proliferación de células NK, con métodos bien conocidos en la técnica y descritos en el presente documento. También pueden someterse a prueba muestras obtenidas de estos (por ejemplo, muestra de suero, orina, esputos, semen, saliva, plasma o tejido) para determinar la reducción en la replicación viral por medio de métodos bien conocidos en la técnica, por ejemplo, los que miden la replicación viral alterada (tal como se determina, por ejemplo, mediante formación de placas) o la producción de proteínas virales (tal como se determina, por ejemplo, mediante análisis e inmunotransferencia de tipo Western, ELISA o citometría de flujo) o ácidos nucleicos virales (tal como se determina, por ejemplo, mediante RT-PCR, análisis de transferencia de tipo Northern o análisis de transferencia de tipo Southern). Para la cuantificación de virus en muestras de tejido, se homogenizan las muestras de tejido en solución salina tamponada con fosfato (PBS), y se adsorben diluciones de homogenizados clarificados durante 1 hora a 37°C sobre monocapas de células (por ejemplo, células Vero, CEF o MDCK). En otros ensayos, se realizan evaluaciones histopatológicas tras la infección, preferiblemente evaluaciones del/de los órgano(s) que se sabe que el virus selecciona como diana para la infección. Puede realizarse inmunohistoquímica de virus usando un anticuerpo monoclonal específico de virus. Los modelos animales a modo de ejemplo no limitativos descritos a continuación pueden adaptarse para otros sistemas virales.

25 Pueden emplearse diversos modelos animales para enfermedades infecciosas que se conocen bien en la técnica para evaluar la eficacia de agentes terapéuticos en la prevención, el tratamiento y/o la gestión de enfermedades infecciosas, por ejemplo: se describen modelos de ratón de virus del herpes simple (VHS) en Crute *et al.*, *Nature Medicine*, 2002, 8:386-391 y Bolger *et al.*, *Antiviral Res.*, 1997, 35:157-165; se describen modelos de cobaya de VHS en Chen *et al.*, *Virol. J.*, 23 de noviembre de 2004, 1:11; se describen modelos animales de citomegalovirus de ratón (MCMV) y citomegalovirus humano (HCMV) en Kern *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2004, 48:4745-4753; se describen modelos de cobaya de CMV en Bourne *et al.*, *Antiviral Res.*, 2000, 47:103-109, Bravo *et al.*, *Antiviral Res.*, 2003, 60:41-49 y Bravo *et al.*, *J. Infectious Diseases*, 2006, 193:591-597; se describen modelos animales de virus de la gripe en Sidwell *et al.*, *Antiviral Res.*, 2000, 48:1-16; y McCauley *et al.*, *Antiviral Res.*, 1995, 27:179-186; se describen modelos de ratón de virus de la hepatitis B (VHB) en Cavanaugh *et al.*, *J. Virol.*, 1997, 71:3236-3243 y Guidotti *et al.*, *J. Virol.*, 1995, 69:6158-6169; se describen modelos de ratón de virus de la hepatitis C (VHC) en Zhu *et al.*, *Antimicrobial Agents and Chemother.*, 2006, 50:3260-3268, Bright *et al.*, *Nature*, 2005, 436:973-978, Hsu *et al.*, *Nat. Biotechnol.*, 2003, 21:519-525, Ilan *et al.*, *J. Infect. Dis.* 2002, 185:153-161, Kneteman *et al.*, *Hepatology*, 2006, 43:1346-1353, Mercer *et al.*, *Nat. Med.*, 2001, 7:927-933 y Wu *et al.*, *Gastroenterology*, 2005, 128:1416-1423; se describen modelos animales de VIH en Ayash-Rashkovsky *et al.*, *FASEB J.*, 2005, 19:1149-1151, Mosier *et al.*, *Semin Immunol.*, 1996, 8:255-262, Mosier *et al.*, *Hosp. Pract. (Off Ed)*. 1996, 31:41-48, 53-55, 59-60, Bonyhadi *et al.*, *Mol. Med. Today*, 1997, 3:246-253, Jolicoeur *et al.*, *Leukemia*, 1999, 13:S78-S80, Browning *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997, 94:14637-14641, y Sawada *et al.*, *J. Exp. Med.*, 1998, 187:1439-1449, y Schito *et al.*, *Curr. HIV Res.*, 2006, 4:379-386.

45 Otros modelos animales para infecciones virales también pueden usarse para evaluar la eficacia de un agente terapéutico, una composición del mismo o una terapia de combinación que comprende un agente terapéutico, por ejemplo, se han desarrollado modelos animales para infecciones virales tales como enfermedades asociadas con VEB, virus del herpes gamma, mononucleosis infecciosa, virus de la inmunodeficiencia de simios ("VIS"), infección con virus de la enfermedad de Borna, hepatitis, infección con virus de la varicela, neumonitis viral, patogenia del virus de Epstein-Barr, virus de la inmunodeficiencia felina ("VIF"), infección con VLTH de tipo 1, rotavirus humanos y herpes genital (véanse, por ejemplo, Hayashi *et al.*, 2002, *Histol Histopathol* 17(4):1293-310; Arico *et al.*, 2002, *J Interferon Cytokine Res* 22(11):1081-8; Flano *et al.*, 2002, *Immunol Res* 25(3):201-17; Sauermann, 2001, *Curr Mol Med* 1(4):515-22; Pletnikov *et al.*, 2002, *Front Biosci* 7:d593-607; Engler *et al.*, 2001, *Mol Immunol* 38(6):457-65; White *et al.*, 2001, *Brain Pathol* 11(4):475-9; Davis & Matalon, 2001, *News Physiol Sci* 16:185-90; Wang, 2001, *Curr Top Microbiol Immunol.* 258:201-19; Phillips *et al.*, 2000, *J Psychopharmacol.* 14(3):244-50; Kazanji, 2000, *AIDS Res Hum Retroviruses.* 16(16):1741-6; Saif *et al.*, 1996, *Arch Virol Suppl.* 12:153-61; y Hsiung *et al.*, 1984, *Rev Infect Dis.* 6(1):33-50).

60 Otros modelos animales para infecciones respiratorias virales incluyen, pero no se limitan a, P1V (véase, por ejemplo, Shephard *et al.*, 2003 *Res Vet Sci* 74(2): 187-190; Ottolini *et al.*, 2002 *J Infect Dis* 186(12): 1713-1717), y RSV (véase, por ejemplo, Culley *et al.*, 2002 *J Exp Med* 196(10): 1381-1386; y Curtis *et al.*, 2002 *Exp Biol Med* 227(9): 799-802).

65 El agente terapéutico, composición del mismo o terapia de combinación que comprende el agente terapéutico puede someterse a prueba para determinar su capacidad para disminuir el transcurso de tiempo de la infección viral.

También pueden usarse modelos animales para infecciones bacterianas para evaluar la eficacia de un agente terapéutico, una composición del mismo o una terapia de combinación que comprende un agente terapéutico. Se han desarrollado modelos animales para infecciones bacterianas tales como infección con *H. pylori*, micoplasmosis genital, colangitis esclerosante primaria, cólera, infección pulmonar crónica con *Pseudomonas aeruginosa*, enfermedad del legionario, enfermedad de úlcera gastroduodenal, meningitis bacteriana, infección gástrica con *Helicobacter*, otitis media por neumococos, neuritis alérgica experimental, neuropatía leprosa, infección por micobacterias, endocarditis, enteritis asociada a *Aeromonas*, infección con *Bacteroides fragilis*, sífilis, endocarditis por estreptococos, osteomielitis hematógena aguda, tífus scrub humano, síndrome de choque tóxico, infecciones anaerobias, infecciones con *Escherichia coli* e infecciones con *Mycoplasma pneumoniae* (véanse, por ejemplo, Sugiyama *et al.*, 2002, J Gastroenterol. 37 Suppl 13:6-9; Brown *et al.*, 2001, Am J Reprod Immunol. 46(3):232-41; Vierling, 2001, Best Pract Res Clin Gastroenterol. 15(4):591-610; Klose, 2000, Trends Microbiol. 8(4):189-91; Stotland *et al.*, 2000, Pediatr Pulmonol. 30(5):413-24; Brieland *et al.*, 2000, Immunopharmacology 48(3):249-52; Lee, 2000, Baillieres Best Pract Res Clin Gastroenterol. 14(1):75-96; Koedel & Pfister, 1999, Infect Dis Clin North Am. 13(3):549-77; Nedrud, 1999, FEMS Immunol Med Microbiol. 24(2):243-50; Prellner *et al.*, 1999, Microb Drug Resist. 5(1):73-82; Vriesendorp, 1997, J Infect Dis. 176 Suppl 2:S164-8; Shetty & Antia, 1996, Indian J Lepr. 68(1):95-104; Balasubramanian *et al.*, 1994, Immunobiology 191(4-5):395-401; Carbon *et al.*, 1994, Int J Biomed Comput. 36(1-2):59-67; Haberberger *et al.*, 1991, Experientia. 47(5):426-9; Onderdonk *et al.*, 1990, Rev Infect Dis. 12 Suppl 2:S169-77; Wicher & Wicher, 1989, Crit Rev Microbiol. 16(3):181-234; Scheld, 1987, J Antimicrob Chemother. 20 Suppl A:71-85; Emslie & Nade, 1986, Rev Infect Dis. 8(6):841-9; Ridgway *et al.*, 1986, Lab Anim Sci. 36(5):481-5; Quimby & Nguyen, 1985, Crit Rev Microbiol. 12(1):1-44; Onderdonk *et al.*, 1979, Rev Infect Dis. 1(2):291-301; Smith, 1976, Ciba Found Symp. (42):45-72, y Tailor-Robinson, 1976, Infection. 4(1 Suppl): 4-8).

El agente terapéutico, composición del mismo o terapia de combinación que comprende el agente terapéutico puede someterse a prueba para determinar su capacidad para disminuir el transcurso temporal de la infección bacteriana, por ejemplo, una infección respiratoria bacteriana en al menos el 25%, al menos el 50%, al menos el 60%, al menos el 75%, al menos el 85%, al menos el 95%, o al menos 99% o del 25% al 65%, del 40% al 65%, del 50% al 90%, del 65% al 90%, del 70% al 90%, del 75% al 95%, del 80% al 95% o del 85% al 99% en relación con un control negativo usando métodos bien conocidos en la técnica.

La eficacia de los agentes terapéuticos, composiciones de los mismos o terapias de combinación que comprenden agentes terapéuticos para la prevención, el tratamiento y/o la gestión de una infección fúngica puede evaluarse en modelos animales para tales infecciones. Se han desarrollado modelos animales para infecciones fúngicas tales como infecciones con *Candida*, cigomicosis, mastitis por *Candida*, triconosporosis diseminada progresiva con triconosporonemia latente, candidiasis diseminada, paracoccidioidomicosis pulmonar, aspergilosis pulmonar, neumonía por *Pneumocystis carinii*, meningitis por criptococos, meningoencefalitis por coccidioides y vasculitis cerebroespinal, infección con *Aspergillus niger*, queratitis por *Fusarium*, micosis del seno paranasal, endocarditis por *Aspergillus fumigatus*, discondroplasia de la tibia, vaginitis por *Candida glabrata*, candidiasis orofaríngea, enfermedad granulomatosa crónica ligada al cromosoma X, tiña del piel, candidiasis cutánea, placentitis micótica, triconosporosis diseminada, aspergilosis broncopulmonar alérgica, queratitis micótica, infección con *Cryptococcus neoformans*, peritonitis fúngica, infección con *Curvularia geniculata*, endoftalmítis por *Staphylococcus*, esporotricosis y dermatofitosis (véanse, por ejemplo, Arendrup *et al.*, 2002, Infection 30(5):286-91; Kamei, 2001, Mycopathologia 152(1):5-13; Guhad *et al.*, 2000, FEMS Microbiol Lett.192(1):27-31; Yamagata *et al.*, 2000, J Clin Microbiol. 38(9):32606; Andrutis *et al.*, 2000, J Clin Microbiol. 38(6):2317-23; Cock *et al.*, 2000, Rev Inst Med Trop Sao Paulo 42(2):59-66; Shibuya *et al.*, 1999, Microb Pathog. 27(3):123-31; Beers *et al.*, 1999, J Lab Clin Med. 133(5):423-33; Najvar *et al.*, 1999, Antimicrob Agents Chemother. 43(2):413-4; Williams *et al.*, 1988, J Infect Dis. 178(4):1217-21; Yoshida, 1988, Kansenshogaku Zasshi. Junio de 1998; 72(6):621-30; Alexandrakis *et al.*, 1998, Br J Ophthalmol. 82(3):306-11; Chakrabarti *et al.*, 1997, J Med Vet Mycol. 35(4):295-7; Martin *et al.*, 1997, Antimicrob Agents Chemother. 41(1):13-6; Chu *et al.*, 1996, Avian Dis. 40(3):715-9; Fidel *et al.*, 1996, J Infect Dis. 173(2):425-31; Cole *et al.*, 1995, FEMS Microbiol Lett. 15; 126(2):177-80; Pollock *et al.*, 1995, Nat Genet. 9(2):202-9; Uchida *et al.*, 1994, Jpn J Antibiot. 47(10):1407-12; Maebashi *et al.*, 1994, J Med Vet Mycol. 32(5):349-59; Jensen & Schonheyder, 1993, J Exp Anim Sci. 35(4):155-60; Gokaslan & Anaissic, 1992, Infect Immun. 60(8):3339-44; Kurup *et al.*, 1992, J Immunol. 148(12):3783-8; Singh *et al.*, 1990, Mycopathologia. 112(3): 127-37; Salcowski & Balish, 1990, Infect Immun. 58(10):3300-6; Ahmad *et al.*, 1986, Am J Kidney Dis. 7(2):153-6; Altire-Werber E, Edberg SC, 1985, Mycopathologia. 89(2):69-73; Kane *et al.*, 1981, Antimicrob Agents Chemother. 20(5):595-9; Barbee *et al.*, 1977, Am J Pathol. 86(1):281-4; y Maestrone *et al.*, 1973, Am J Vet Res. 34(6):833-6). Modelos animales para infecciones respiratorias fúngicas tales como *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, aspergilosis pulmonar invasiva, *Pneumocystis carinii*, criptococosis pulmonar, *Pseudomonas aeruginosa*, *Cunninghamella bertholletia* (véanse, por ejemplo, Aratani *et al.*, 2002 Med Mycol 40(6):557-563; Bozza *et al.*, 2002 Microbes Infect 4(13): 1281-1290; Kurup *et al.*, 2002 Int Arch Allergy Immunol 129(2):129-137; Hori *et al.*, 2002 Eur J Immuno 32(5): 1282-1291; Rivera *et al.*, 2002 J Immuno 168(7): 3419-3427; Vassallo *et al.*, 2001, Am J Respir Cell Mol Biol 25(2): 203-211; Wilder *et al.*, 2002 Am J Respir Cell Mol Biol 26(3): 304-314; Yonezawa *et al.*, 2000 J Infect Chemother 6(3): 155-161; Cacciapuoti *et al.*, 2000 Antimicrob Agents Chemother 44(8): 2017-2022; y Honda *et al.*, 1998 Mycopathologia 144(3):141-146).

Los agentes terapéuticos, composiciones de los mismos o terapias de combinación que comprenden agentes terapéuticos pueden someterse a prueba para determinar su capacidad para disminuir el transcurso temporal de la infección fúngica (por ejemplo, una infección respiratoria fúngica) en al menos el 25%, al menos el 50%, al menos el

60%, al menos el 75%, al menos el 85%, al menos el 95%, o al menos el 99% o del 25% al 65%, del 40% al 65%, del 50% al 90%, del 65% al 90%, del 70% al 90%, del 75% al 95%, del 80% al 95% o del 85% al 99% en relación con un control negativo (por ejemplo, PBS) tal como se mide usando ensayos bien conocidos en la técnica. Pueden usarse técnicas conocidas por los expertos en la técnica para analizar la función de los agentes terapéuticos, composiciones de los mismos o terapias de combinación que comprenden agentes terapéuticos *in vivo*.

También pueden usarse modelos animales para trastornos autoinmunitarios para evaluar la eficacia de un agente terapéutico, composición del mismo o terapia de combinación que comprende un agente terapéutico. Se han desarrollado modelos animales para trastornos autoinmunitarios tales como diabetes tipo 1, autoinmunidad del tiroides, lupus eritematoso sistémico y glomerulonefritis (Flanders *et al.*, 1999, *Autoimmunity* 29:235-246; Krogh *et al.*, 1999, *Biochimie* 81:511-515; Foster, 1999, *Semin. Nephrol.* 19:12-24).

La eficacia en la prevención, el tratamiento y/o la gestión de un trastorno autoinmunitario puede demostrarse, por ejemplo, detectando la capacidad de un agente terapéutico, una composición o una terapia de combinación descrito en el presente documento para reducir uno o más síntomas del trastorno autoinmunitario, para reducir los recuentos de linfocitos absolutos medios, para disminuir la activación de células T, para disminuir la proliferación de células T, para reducir la producción de citocinas o para modular uno o más perfiles de citocinas particulares. La eficacia en la prevención o el tratamiento de la psoriasis puede demostrarse, por ejemplo, detectando la capacidad de un agente terapéutico o composición del mismo para reducir uno o más síntomas de psoriasis, para reducir los recuentos de linfocitos absolutos medios, para reducir la producción de citocinas, para modular uno o más perfiles de citocinas particulares, para disminuir la descamación, para disminuir el eritema, para disminuir la elevación de placas, para disminuir la activación de células T en la dermis o epidermis de una zona afectada, para disminuir la infiltración de células T en la dermis o epidermis de una zona afectada, para reducir PASI, para mejorar la puntuación de evaluación global del médico o para mejorar la calidad de vida.

La actividad antiinflamatoria de un agente terapéutico, una composición del mismo o una terapia de combinación que comprende un agente terapéutico puede determinarse usando diversos modelos animales experimentales de artritis inflamatoria conocidos en la técnica y descritos en Crofford L.J. y Wilder R.L., "Arthritis and Autoimmunity in Animals", en *Arthritis and Allied Conditions: A Textbook of Rheumatology*, McCarty (eds.), capítulo 30 (Lee y Febiger, 1993). También pueden usarse modelos animales experimentales y espontáneos de artritis inflamatoria y enfermedades reumáticas autoinmunitarias para evaluar la actividad antiinflamatoria de los agentes terapéuticos, composiciones de los mismos o terapias de combinación que comprenden agentes terapéuticos.

La actividad antiinflamatoria de un agente terapéutico, una composición del mismo o una terapia de combinación que comprende un agente terapéutico también puede evaluarse midiendo la inhibición de edema de las garras inducido por carragenanos en la rata, usando una modificación del método descrito en Winter C. A. *et al.*, "Carrageenan Induced Edema in Hind Paw of the Rat as an Assay for Anti-inflammatory Drugs" *Proc. Soc. Exp. Biol Med.* 111, 544-547, (1962). Este ensayo se ha usado como examen *in vivo* primario para determinar la actividad antiinflamatoria de la mayoría de los AINE, y se considera predictivo de la eficacia en seres humanos. La actividad antiinflamatoria de las terapias de prueba (por ejemplo, los agentes terapéuticos, composiciones de los mismos o terapias de combinación que comprenden agentes terapéuticos) se expresa como el porcentaje de inhibición del aumento del peso de las garras traseras del grupo de prueba en relación con el grupo de control al que se le dosificó vehículo.

En una realización específica en donde el modelo animal experimental usado es modelo de rata con artritis inducida por adyuvante, el peso corporal puede medirse en relación con un grupo de control para determinar la actividad antiinflamatoria de un agente terapéutico, una composición del mismo o una terapia de combinación.

Se conocen en la técnica modelos animales para alergias y asma, tales como inflamación de flujo constante con oclusión inspiratoria final descrita en Ewart *et al.*, 1995 *J Appl Physiol* 79(2):560-566 y otros ensayos descritos en, por ejemplo, Komai *et al.*, 2003 *Br J Pharmacol* 138(5): 912-920; Kenyon *et al.*, 2003 *Toxicol Appl Pharmacol* 186(2): 90-100; Path *et al.*, 2002 *Am J Resp & Critical Care Med* 166(6): 818-826; Martins *et al.*, 1990 *Crit Care Med* 19:515-519; Nicolaidis *et al.*, 1997 *Proc Natl Acad Sci USA* 94:13175-13180; McLane *et al.*, 1998 19:713-720; y Temann *et al.*, 1998 *J Exp Med* 188(7): 1307-1320. Por ejemplo, el modelo de transferencia adoptiva murino es un modelo animal usado para evaluar la eficacia de un agente terapéutico, una composición del mismo o una terapia de combinación para la prevención, el tratamiento y/o la gestión de asma. En el modelo de transferencia adoptiva murino, la estimulación con aeroalérgenos de ratones receptores TH1 o TH2 da como resultado la migración de células efectoras TH a las vías respiratorias y está asociada con una respuesta inflamatoria mucosa pulmonar neutrófila (TH1) y eosinófila (TH2) intensa (Cohn *et al.*, 1997, *J. Exp. Med.* 186:1737-1747). Puede inducirse hipersensibilidad de las vías respiratorias en ratones mediante ovoalbúmina (Tomkinson *et al.*, 2001, *J. Immunol.* 166:5792-5800) o antígeno de huevos de *Schistosoma mansoni* (Tesciuba *et al.*, 2001, *J. Immunol.* 167:1996-2003).

La eficacia en la prevención o el tratamiento de un trastorno antiinflamatorio puede demostrarse, por ejemplo, detectando la capacidad de un agente terapéutico, una composición del mismo o una terapia de combinación que comprende un agente terapéutico para reducir uno o más síntomas del trastorno inflamatorio, para disminuir la activación de células T, para disminuir la proliferación de células T, para modular uno o más perfiles de citocinas,

para reducir la producción de citocinas, para reducir la inflamación de una articulación, un órgano o un tejido o para mejorar la calidad de vida.

También pueden evaluarse los cambios en la actividad de enfermedades inflamatorias a través del recuento de articulaciones doloridas e hinchadas, las puntuaciones globales del paciente y el médico para dolor y actividad de la enfermedad, y el ESR/CRP. La progresión del daño articular estructural puede evaluarse mediante puntuación cuantitativa de rayos X de las manos, las muñecas y los pies (método de Sharp). Los cambios en el estado funcional en seres humanos con trastornos inflamatorios pueden evaluarse usando el cuestionario de evaluación de la salud (HAQ), y los cambios en la calidad de vida se evalúan con el SF.

La eficacia de un agente terapéutico, una composición del mismo o una terapia de combinación que comprende un agente terapéutico en la prevención, el tratamiento y/o la gestión de una reacción alérgica de tipo I puede evaluarse mediante su capacidad para inducir anticuerpos anti-IgE que inhiben la unión de IgE a su receptor en mastocitos o basófilos *in vitro*. Los niveles de IgE pueden someterse a ensayo mediante inmunoensayos, electroforesis en gel seguida por visualización, prueba de radioinmunoabsorción (RIST), prueba de radioalergosorbente (RAST) o cualquier otro método conocido por los expertos en la técnica.

#### 5.10 KITS

Se proporciona en el presente documento un kit o envase farmacéutico que comprende uno o más recipientes llenos de uno o más de los componentes de las composiciones descritas en el presente documento, tales como uno o más anticuerpos proporcionados en el presente documento, o uno o más agentes terapéuticos proporcionados en el presente documento. Opcionalmente asociado con tal(es) recipiente(s) puede estar un aviso en la forma prescrita por una agencia gubernamental que regula la fabricación, el uso o la venta de productos farmacéuticos o productos biológicos, aviso que refleja la aprobación por la agencia de la fabricación, el uso o la venta para su administración a seres humanos. Además, el kit o envase farmacéutico puede incluir instrucciones para el uso de un anticuerpo o agente terapéutico descrito en el presente documento.

Los kits englobados en el presente documento pueden usarse en los métodos anteriores. En una realización, un kit comprende un anticuerpo descrito en el presente documento, preferiblemente un anticuerpo aislado, en uno o más recipientes. En otra realización, un kit comprende un agente terapéutico descrito en el presente documento, en uno o más recipientes.

En determinadas realizaciones, se engloban en el presente documento kits de diagnóstico para evaluar el nivel de expresión de un receptor nativo o ligando nativo. En algunas realizaciones, uno o más de los agentes terapéuticos descritos en el presente documento pueden usarse para evaluar el nivel de expresión de un receptor nativo o ligando nativo. Por consiguiente, se proporcionan en el presente documento kits de diagnóstico que comprenden un agente terapéutico descrito, en un recipiente. En algunas realizaciones, se incluyen con el kit instrucciones sobre cómo usar el agente terapéutico para evaluar el nivel de expresión de un receptor nativo o ligando nativo. En particular, las instrucciones incluidas pueden describir la puesta en contacto de una muestra de un paciente (por ejemplo, células, fluidos, etc.) con un agente terapéutico y la detección del agente terapéutico unido a la muestra. El agente terapéutico podría estar marcado con un resto detectable o podría usarse un agente secundario marcado que reconoce al agente terapéutico (y por tanto, puede incluirse en el kit).

#### 5.11 ENSAYO DE EXAMEN PARA IDENTIFICAR INTERACCIONES RECEPTOR/LIGANDO

En un aspecto, se presentan en el presente documento métodos para identificar una interacción receptor-ligando. En una realización, se presenta en el presente documento un método para identificar una interacción receptor-ligando, que comprende: (a) poner en contacto una proteína de fusión o un conjugado con una célula modificada por ingeniería genética para expresar o que expresa una proteína de interés en condiciones que permiten que la proteína de fusión o el conjugado y la proteína de interés formen un complejo, en el que la proteína de fusión comprende una proteína diana o un fragmento de la misma y una etiqueta de péptido u otro marcador de polipéptido, un péptido penetrante o una molécula pequeña distinta de una molécula orgánica; y (b) detectar la presencia de un complejo de proteína de fusión-proteína de interés o complejo de conjugado-proteína de interés, en el que la presencia de un complejo de proteína de fusión-proteína de interés o complejo de conjugado-proteína de interés indica que la proteína diana y la proteína de interés tienen una interacción receptor-ligando. En otra realización, se presenta en el presente documento un método para identificar una interacción receptor-ligando, que comprende: (a) poner en contacto una proteína de fusión o un conjugado con una célula modificada por ingeniería genética para expresar o que expresa 2, 4, 6, 8, 10, 12 o más proteínas de interés, o entre 2 y 5, 2 y 8, 5 y 8, 5 y 10 o 10 y 12 proteínas de interés en condiciones que permiten que la proteína de fusión o conjugado y una proteína de interés formen un complejo, en el que la proteína de fusión o conjugado comprende una proteína diana o un fragmento de la misma y una etiqueta de péptido u otro marcador de polipéptido, un péptido penetrante o una molécula pequeña distinta de una molécula orgánica; y (b) detectar la presencia de un complejo de proteína de fusión-proteína de interés o complejo de conjugado-proteína de interés, en el que la presencia de un complejo de proteína de fusión-proteína de interés o complejo de conjugado-proteína de interés indica que la proteína diana y la proteína de interés tienen una interacción receptor-ligando.

En otra realización, se presenta en el presente documento un método para identificar una interacción receptor-ligando, que comprende: (a) poner en contacto una biblioteca de proteínas de fusión o una biblioteca de conjugados con una célula modificada por ingeniería genética para expresar o que expresa una proteína de interés en condiciones que permiten que una proteína de fusión o conjugado y la proteína de interés formen un complejo, en el que la proteína de fusión o conjugado comprende una proteína diana o un fragmento de la misma y una etiqueta de péptido u otro marcador de polipéptido, un péptido penetrante o una molécula pequeña distinta de una molécula orgánica; y (b) detectar la presencia de un complejo de proteína de fusión-proteína de interés o complejo de conjugado-proteína de interés, en el que la presencia de un complejo de proteína de fusión-proteína de interés o complejo de conjugado-proteína de interés indica que la proteína diana y la proteína de interés tienen una interacción receptor-ligando. En otra realización, se presenta en el presente documento un método para identificar una interacción receptor-ligando, que comprende: (a) poner en contacto una proteína de fusión o conjugado con una biblioteca de células modificadas por ingeniería genética para expresar o que expresan una proteína de interés diferente en condiciones que permiten que la proteína de fusión o conjugado y una proteína de interés formen un complejo, en el que la proteína de fusión o conjugado comprende una proteína diana o un fragmento de la misma y una etiqueta de péptido u otro marcador de polipéptido, un péptido penetrante o una molécula pequeña distinta de una molécula orgánica; y (b) detectar la presencia de un complejo de proteína de fusión-proteína de interés o complejo de conjugado-proteína de interés, en el que la presencia de un complejo de proteína de fusión-proteína de interés o complejo de conjugado-proteína de interés indica que la proteína diana y la proteína de interés tienen una interacción receptor-ligando.

En determinadas realizaciones, la proteína diana se expresa mediante una célula de mamífero. En una realización específica la proteína diana se expresa mediante una célula hematopoyética. En otra realización, la proteína diana se expresa mediante una célula muscular. En otra realización la proteína diana se expresa mediante un fibroblasto. En otra realización, la proteína diana se expresa mediante una célula epitelial. En otra realización, la proteína diana se expresa mediante una célula endotelial. En otra realización, la proteína diana se expresa mediante un linfocito. En otra realización, la proteína diana se expresa mediante un macrófago o un fragmento del mismo. En otra realización, la proteína diana se expresa mediante una célula dendrítica. En otra realización, la proteína diana es una molécula coestimuladora (por ejemplo, un receptor o ligando coestimulador). En otra realización, la proteína diana es una citocina o un receptor de citocinas. En una realización específica, la proteína diana es una proteína humana. En otra realización específica, la proteína diana es una proteína transmembrana de longitud completa. En otra realización, la proteína diana es un receptor huérfano o ligando huérfano.

Los ejemplos no limitativos de etiquetas de péptido y otros marcadores de polipéptido incluyen: un péptido de hexahistidina, una etiqueta de HA, una etiqueta flag, el dominio Fc de un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo de IgG tal como IgG1 o IgG2) y una región del dominio Fc de un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo de IgG). En determinadas realizaciones, una proteína de fusión comprende tanto una etiqueta de péptido u otro marcador de polipéptido como un péptido penetrante.

Pueden usarse técnicas de biología molecular convencionales para generar ácidos nucleicos que codifican para una proteína de fusión, expresar la proteína de fusión y aislarla o purificarla del cultivo celular. Los ácidos nucleicos que codifican para el dominio extracelular de una proteína diana o un fragmento de la misma así como los ácidos nucleicos que codifican para etiquetas de péptido u otros marcadores de polipéptido, o péptidos penetrantes pueden estar pública o comercialmente disponibles. Pueden modificarse por ingeniería genética ácidos nucleicos en constructos usando técnicas de biología molecular convencionales. Véanse las secciones 5.2.4 y 5.3.4, anteriormente, que se refieren a ácidos nucleicos. Los constructos de ácido nucleico descritos en esa sección también pueden usarse para producir constructos de ácido nucleico para la transfección en células para su uso en los métodos descritos en esta sección.

En determinadas realizaciones, la proteína de interés es una proteína expresada mediante una célula de mamífero. En una realización específica la proteína de interés es una proteína expresada mediante una célula hematopoyética. En otra realización, la proteína de interés es una proteína expresada mediante una célula muscular. En otra realización la proteína de interés es una proteína expresada mediante un fibroblasto. En otra realización, la proteína de interés es una proteína expresada mediante una célula epitelial. En otra realización, la proteína de interés es una proteína expresada mediante una célula endotelial. En otra realización, la proteína de interés es una proteína expresada mediante un linfocito. En otra realización, la proteína de interés es una proteína expresada mediante una célula dendrítica. En otra realización, la proteína de interés es una proteína que es una molécula coestimuladora (por ejemplo, un receptor o ligando coestimulador). En otra realización, la proteína de interés es una citocina o un receptor de citocinas. En una realización específica, la proteína de interés es una proteína humana. En otra realización específica, la proteína de interés es una proteína transmembrana de longitud completa. En otra realización, la proteína de interés es un receptor huérfano o ligando huérfano. Véase la tabla 1, ejemplos no limitativos de proteínas de interés.

Los ácidos nucleicos que codifican para una proteína de interés o un fragmento de la misma pueden estar pública o comercialmente disponibles. Pueden modificarse por ingeniería genética ácidos nucleicos en constructos usando técnicas de biología molecular convencionales. Véanse las secciones 5.2.4 y 5.3.4, anteriormente, que se refieren a

ácidos nucleicos. Los constructos de ácido nucleico descritos en esa sección también pueden usarse para producir constructos de ácido nucleico para la transfección en células para su uso en los métodos descritos en esta sección.

5 Pueden transfectarse de manera estable o transitoria células con una secuencia de ácido nucleico que codifica para una proteína de interés o un constructo de ácido nucleico que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para una proteína de interés. Véase la sección 5.3.5 anteriormente para métodos para transfectar células con secuencias de ácido nucleico. Los ejemplos no limitativos de células que pueden usarse para expresar la(s) proteína(s) de fusión incluyen células de mamífero, células bacterianas, células de levadura, células primarias, células inmortalizadas y células de insecto. En determinadas realizaciones, las células son una línea celular de mamífero. Los ejemplos de líneas celulares de mamífero incluyen, pero no se limitan a, células COS, CHO, HeLa, NIH3T3, HepG2, MCF7, HEK, 293T, RD, PC12, hibridomas, células pre-B, 293, 293H, K562, SkBr3, BT474, A204, M07Sb, TF $\dot{y}$ , Raji, Jurkat, MOLT-4, CTLL-2, MC-IXC, SK-N-MC, SK-N-MC, SK-N-DZ, SHSY5Y, C127, N0 y BE(2)-C. Otras líneas celulares de mamífero disponibles como huéspedes para la expresión se conocen en la técnica e incluyen muchas líneas celulares inmortalizadas disponibles de la Colección americana de cultivos tipo (ATCC). En otra realización, las células son líneas celulares inmortalizadas derivadas de un sujeto. En otra realización, las células son células primarias o secundarias de un sujeto. En una realización particular, las células son células cancerosas. En otra realización, las células son células fetales/embrionarias. En algunas realizaciones, las células son células progenitoras. En algunas realizaciones, las células son linfocitos (por ejemplo, células T y células B). En otra realización, las células son células madre. En una realización específica, las células son células 293T.

20 En realizaciones específicas, las células transfectadas con ácidos nucleicos que codifican para una proteína de interés tienen un alto nivel de expresión.

25 En determinadas realizaciones, se pone en contacto una proteína de fusión o conjugado con una célula que expresa una proteína de interés en un pocillo de una placa. En realizaciones particulares, se pone en contacto una proteína de fusión o conjugado con una célula que expresa una proteína de interés en una placa de microtitulación. En una realización específica, la placa de microtitulación es una placa de microtitulación de 12 pocillos, 96 pocillos o 384 pocillos.

30 En determinadas realizaciones, se incuba una célula que expresa una proteína de interés con una proteína de fusión o conjugado en condiciones fisiológicas. En algunas realizaciones, se incuba una célula que expresa una proteína de interés con una proteína de fusión o conjugado a aproximadamente 22°C, 25°C, 32°C o 37°C, o de aproximadamente 22°C a aproximadamente 25°C, de aproximadamente 22°C a aproximadamente 27°C, de aproximadamente 25°C a aproximadamente 27°C, de aproximadamente 32°C a aproximadamente 35°C o de 32°C a aproximadamente 37°C. En determinadas realizaciones, se pone en contacto una célula que expresa una proteína de interés con una proteína de fusión o conjugado durante aproximadamente 5 minutos, 10 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 8 horas, 10 horas, 12 horas, 16 horas, 18 horas, 1 día, 2 días o más. En algunas realizaciones, tras poner en contacto la proteína de fusión o conjugado con una proteína de interés, pueden realizarse una o más etapas de lavado para eliminar la proteína de fusión no unida o conjugado no unido. En realizaciones alternativas, puede no realizarse etapas de lavado para eliminar la proteína de fusión no unida o conjugado no unido.

45 En algunas realizaciones, se usa un anticuerpo que se une específicamente a una etiqueta de péptido u otro marcador de polipéptido, o un péptido penetrante para detectar un complejo de proteína de fusión-proteína de interés o complejo de conjugado-proteína de interés. En algunas realizaciones, el anticuerpo se pone en contacto con las células a aproximadamente 22°C, 25°C, 32°C o 37°C, o de aproximadamente 22°C a aproximadamente 25°C, de aproximadamente 22°C a aproximadamente 27°C, de aproximadamente 25°C a aproximadamente 27°C, de aproximadamente 32°C a aproximadamente 35°C o de 32°C a aproximadamente 37°C. En algunas realizaciones, el anticuerpo se pone en contacto con las células durante aproximadamente 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 8 horas, 10 horas, 12 horas, 16 horas, 18 horas, 1 día, 2 días o más. En algunas realizaciones, tras poner en contacto el anticuerpo con las células, pueden realizarse una o más etapas de lavado para eliminar el anticuerpo no unido. En realizaciones alternativas, pueden no realizarse etapas de lavado para eliminar el anticuerpo no unido.

55 En realizaciones específicas, un anticuerpo que se une específicamente a una etiqueta de péptido u otro marcador de polipéptido, o un péptido penetrante se marca con un resto detectable. Pueden encontrarse ejemplos no limitativos de restos detectables en la sección 5.1.2 y 5.2.3, anteriormente. En una realización específica, el anticuerpo se marca con un resto fluorescente. En determinadas realizaciones, puede usarse el sistema de detección celular (CDS) Applied BioSystem 8200 para detectar la fluorescencia del anticuerpo unido al complejo de proteína de fusión-proteína de interés. En una realización específica, el CDS explora el pocillo de una placa de microtitulación a una profundidad de aproximadamente 75  $\mu\text{m}$ , aproximadamente 90  $\mu\text{m}$ , aproximadamente 95  $\mu\text{m}$ , aproximadamente 100  $\mu\text{m}$ , aproximadamente 105  $\mu\text{m}$ , aproximadamente 110  $\mu\text{m}$ , aproximadamente 115  $\mu\text{m}$  o aproximadamente 120  $\mu\text{m}$ . En algunas realizaciones, se usa polarización de fluorescencia para detectar un complejo de proteína de fusión-proteína de interés.

65 Una vez que se ha identificado una interacción receptor-ligando usando un método descrito en esta sección, la

interacción receptor-ligando puede evaluarse usando otro ensayo biológico descrito en el presente documento (por ejemplo, afinidad de unión, un ensayo de proliferación, etc.).

Los ensayos descritos en esta sección pueden aplicarse para identificar una interacción entre una molécula pequeña y otra molécula orgánica, tal como un péptido que comprende determinados residuos de interés de una proteína particular (por ejemplo, residuos de tirosina).

## 6. EJEMPLO: IDENTIFICACIÓN DE INTERACCIONES ESTIMULADORAS DE LINFOCITOS MEDIANTE UN PROTEOMA DE RECEPTORES HUMANOS

El siguiente ejemplo se ofrece a modo de ilustración, y no a modo de limitación.

### 6.1 MATERIALES Y MÉTODOS

#### 6.1.1 Plásmidos, proteínas de fusión y anticuerpos monoclonales

Se adquirió un conjunto de ADNc de membrana plasmática de longitud de completa humano (MHS5007) de Open Biosystems Inc. (Huntsville, AL), y se incluyeron -800 genes del conjunto que está en un vector de expresión de mamíferos pCMV-SPORT6. Se clonaron aproximadamente 1.000 genes en los plásmidos pcDNA3.2/V5-DEST o pcDNA6.2/V5-DEST de vector de expresión no de mamíferos en el vector pcDNA3 usando el sistema de clonación Gateway basado en recombinación homóloga (Invitrogen, Carlsbad, CA). Se clonan otros genes en el plásmido pcDNA3 mediante una técnica de clonación por RT-PCR convencional y se validaron las secuencias de ADNc mediante la secuenciación.

Se adquirieron las proteínas de fusión humanas CD28lg, CTLA4lg, ICOSlg, PD-1lg, B7-1lg, B7-2lg, B7-H1lg, B7-DClg y B7-H2lg de R&D Systems (Mineápolis, MN). Se adquirió CTLA4lg (Orencia) de Bristol-Myers Squibb (Nueva York, NY). Se prepararon las proteínas de fusión B7-H7lg, B7-H67CRlg y FLAG-Ig transfectando de manera transitoria células 293T con los constructos en plásmidos pMlgV o pHlgV, y se purificaron mediante columnas de proteína A tal como se describió anteriormente (1).

Se adquirieron AcM de ratón anti-CD3 humano OKT3, AcM de ratón anti-CD28 humano CD28.6 (bloqueante), AcM de ratón anti-CD28 humano CD28.2 (coestimulador), AcM de ratón anti-CTLA-4 humano 14D3 y AcM de ratón anti-B7-H2 humano MIH12 de eBioscience (San Diego, CA). Se adquirieron AcM de ratón anti-ICOS humano C398.4A y AcM de ratón anti-B7-H2 humano 9F.8A4 de BioLegend (San Diego, CA). Se adquirieron anticuerpo anti-Ig humana y anti-Ig de ratón FMAT blue de Applied Biosystems (Foster City, CA). Se adquirió IgG humana de control (Synagis®) de MedImmune (Rockville, MD). Se adquirió IgG de hámster de control, de hámster anti-TNP de ratón de eBioscience. Se generó AcM de ratón anti-B7-H7 humano a partir de un hibridoma derivado de la fusión de mieloma SP2 con células B de un ratón inmunizado con B7-H7lg humana. Se generó AcM de hámster anti-B7-H7CR humano a partir de un hibridoma derivado mediante fusión de mieloma SP2 con células B de un hámster inmunizado con B7-H7CRlg humana tal como se describe en otra parte (2). Todos los demás anticuerpos usados en la citometría de flujo se adquirieron de BD Bioscience (San José, CA) o eBioscience.

#### 6.1.2 Examen y transfección de alto rendimiento

Se diluyeron los plásmidos con genes transmembrana humanos mediante medio OPTI-MEM y se colocaron individualmente en cinco placas de 384 pocillos a 30 ng/pocillo. Se añadió Lipofectamine 2000 a cada pocillo y se mezcló con los plásmidos durante 30 minutos. Se añadieron posteriormente diez mil células 293T a los pocillos para realizar la transfección transitoria. Ocho horas tras la transfección, se añadieron a los pocillos CD28lg humana y anticuerpo secundario anti-Ig humana FMAT blue, o B7-H7CRlg humana y anticuerpo secundario anti-Ig de ratón FMAT blue. Se leyeron las placas veinticuatro horas tras la transfección mediante el sistema de detección celular Applied Biosystems 8200 y se analizaron mediante el software CDS 8200. Se recogieron los plásmidos en los pocillos positivos y se transfectaron posteriormente en células 293T para su validación adicional.

#### 6.1.3 Resonancia de plasmón superficial

Se midieron y analizaron las interacciones de proteínas en un instrumento BIAcore 3000 (BIAcore AB, Uppsala, Suecia) realizado a 25°C tal como se describió anteriormente (3). Se usó Hepes 0,1 M, pH 7,4, que contenía NaCl 0,15 M, tensioactivo P20 al 0,005% (HBS) como tampón de ejecución. Se adquirieron B7-H2lg, CD28lg y CTLA-4lg humanas de R&D Systems. Todos los demás reactivos se adquirieron de BIAcore. Se acopló covalentemente B7-H2lg a un chip sensor CM5 (BIAcore AB) reticulando grupos amina primaria a la matriz de dextrano carboximetilado. Se activó una célula de flujo sobre el chip CM5 con una mezcla 1:1 de N-etil-N-dimetilaminopropilcarbodiimida (EDC) y N-hidroxisuccinimida (NHS), seguido por inyección de B7-H2lg 20 µg/ml diluida en tampón acetato de sodio 10 mM, pH 5,0, hasta que se lograron las unidades de respuesta (RU) deseadas. Otra célula de flujo activada sobre el mismo chip, que no recibió ninguna proteína de fusión, se usó como superficie de sensor de control. Los grupos carboxilo activados restantes se bloquearon con etanolamina 1 M (pH 8,5). Posteriormente, se lavaron extensamente las células de flujo con HBS para generar un nivel inicial estable. Se inyectaron los analitos, ICOSlg,

CD28lg y CTLA4lg, en diluciones en serie sobre la superficie de sensor por triplicado a una velocidad de flujo de 20-30  $\mu\text{l}/\text{min}$  durante 3 min, y luego se permitió la disociación durante 5 min. Se regeneraron las células de flujo mediante dos pulsos consecutivos de 10 segundos con NaOH 10 mM. Se analizaron los datos mediante el software BIAevaluation 4.1 (BIAcore).

5

#### 6.1.4 Ensayo de coestimulación de células T

Las placas de 96 pocillos se recubrieron previamente con AcM OKT (anti-CD3 humano) a las concentraciones indicadas. También se inmovilizaron en los pocillos B7-H2lg, B7-H7lg, anti-B7-H7CR o Ig de control a 5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Se seleccionaron negativamente células T de sangre periférica humana y se purificaron mediante un kit de selección de todas las células T humanas o un kit de selección de células T CD4 humanas (Miltenyi Biotec, Auburn, CA). Se añadieron células T humanas sin tratamiento previo a cada pocillo a  $2,5\text{-}3 \times 10^5$  células/pocillo y se cultivaron durante tres días. En algunos experimentos, se añadieron anticuerpos coestimuladores anti-CD28 humano o bloqueantes anti-CD28 humano y anti-ICOS humano al comienzo del cultivo. Se añadió 3HTdR durante el cultivo de seis horas final. Se contó la incorporación de 3H-TdR con un contador de centelleo líquido MicroBeta Trilux (Wallac).

10

15

#### 6.1.5 Células dendríticas y macrófagos derivados de monocitos humanos

Se aislaron PBMC humanas mediante centrifugación en gradiente de densidad. Se adhirieron cincuenta millones de PBMC sobre una placa de cultivo tisular de 100 mm durante 45 min en un incubador a 37°C. Se cultivaron células adherentes a  $0,5 \times 10^6$  células/ml en 10 ml de medio RPMI completo al 10%. Se complementó el medio con GM-CSF 1.000 U/ml para la generación de macrófagos, o IL-4 500 U/ml y GM-CSF 1000 U/ml para la diferenciación de células dendríticas. El día 2, 4 y 6, se tomó la mitad del medio y se cambió por medio nuevo con citocinas. El día 7, se recogieron los macrófagos y las células dendríticas inmaduras.

20

25

#### 6.1.6 ELISA

Se recogieron los sobrenadantes del ensayo de coestimulación de células T. Se detectaron IFN- $\gamma$ , IL-2 e IL-10 humanos mediante métodos de ELISA de tipo sándwich según las instrucciones del fabricante (BD PharMingen o eBioscience).

30

### 6.2 RESULTADOS

Los receptores de membrana plasmática sobre células inmunitarias han evolucionado para mediar en amplias funciones biológicas incluyendo la detección de patógenos, la adhesión celular, el reconocimiento de antígenos y la transmisión de señales extracelulares al interior de las células. Por tanto, las interacciones entre receptores inmunitarios y sus ligandos (o contrarreceptor) son fundamentales para la comunicación e integración celulares que conducen a la ejecución de las respuestas inmunitarias. Mediante una búsqueda en bases de datos del genoma humano, se predice que más de 3.000 secuencias de ADN únicas, que codifican para dominio extracelular hidrófilo y dominio transmembrana hidrófobo, pueden codificar para proteínas de membrana celular (4, 5). Sin embargo, se han identificado menos de 500 proteínas como contrarreceptores y esto se debe en gran medida a una limitación de los métodos sensibles. Muchas proteínas de superficie celular o su ARNm tienen una abundancia baja y sus expresiones varían según claves ambientales. Además, la mayoría de las interacciones moleculares de la superficie celular están en un modo de activación rápida e inactivación rápida con afinidad débil. Aunque esta característica permite un control máximo de la señalización y su efecto en respuestas inmunitarias, aumenta la dificultad para identificar las interacciones mediante los métodos actuales incluyendo clonación por expresión y microsecuenciación de proteínas.

35

40

45

Se han obtenido más de 1.900 genes transmembrana humanos de longitud completa basándose en su expresión en células hematopoyéticas (tabla 1). Estos genes incluyen las moléculas de la superfamilia de las inmunoglobulinas (IgSF), la superfamilia de factor de necrosis tumoral (TNFRSF), la superfamilia de lectina de tipo C, la superfamilia de receptores acoplados a proteínas G (GPCR), así como la mayoría de las lectinas, integrinas y receptores de eliminación. Mediante transfección de plásmidos individuales en células 293T en placas de 384 pocillos, se demostró la expresión de alto nivel de genes en el 50-70% de las células 293T a partir de muestras seleccionadas aleatoriamente en este proteoma. La expresión de alto nivel de proteínas individuales sobre la superficie celular aumenta la avidéz de la interacción con sus contrarreceptores. Para el examen de un contrarreceptor desconocido de una proteína diana, el dominio extracelular del gen diana se fusiona genéticamente con un gen de etiqueta (Fc de IgG2a de ratón, Fc de IgG1 humana, FLAG o 6xHIS), y la proteína de fusión recombinante, que se genera mediante transfección transitoria del plásmido en 293T, se usa para la detección mediante unión al proteoma. Se aplica un anticuerpo secundario marcado con fluorescencia contra la etiqueta para detectar la unión de proteína diana al proteoma. Se adaptó el sistema de detección celular (CDS) Applied Biosystem 8200 para un examen rápido de la actividad de fluorescencia de la unión (figura 1). El CDS permite la exploración de sólo la parte inferior de un pocillo de la microplaca a una profundidad de 100 pm de modo que se ignora el anticuerpo secundario que no se une, dando como resultado una alta razón de señal con respecto a ruido que elimina todas las etapas de lavado. La combinación de una interacción de avidéz aumentada y un sistema de detección altamente sensible permite la identificación de interacciones receptor-ligando que no pueden detectarse en células primarias mediante otros

50

55

60

65

métodos tales como citometría de flujo. El descubrimiento de las interacciones B7-H2-CD28 y B7-H2-CTLA4 validó, por tanto, este sistema proteómico como una herramienta para descubrir interacciones novedosas incluso entre moléculas bien estudiadas.

5 Se exploró el uso de este sistema de proteoma para identificar el receptor para ligandos huérfanos usando B7-H7 como ejemplo. Se describió previamente B7-H7 como una proteína 2 de asociación a repetición terminal larga de retrovirus endógeno humano-H (HHLA2) sin función biológica identificada (17), aunque se indicó como un posible miembro de la familia B7 mediante búsqueda de homología (18). Mediante comparación de sus secuencias de nucleótidos y proteína, se demostró su homología con otros miembros de B7 humanos conocidos incluyendo B7-1,  
10 B7-2, B7-H1, B7-DC, B7-H2, B7-H3 y B7-H4, con la mayor homología con B7-H4 (figura 7). Por tanto, se le asignó el nombre B7-H7. El gen está ubicado en el cromosoma 3q13.13, inmediatamente adyacente a B7-1 y B7-2, y codifica para una proteína transmembrana de tipo I de 414 aminoácidos de longitud con una masa molecular predicha de ~45 KD. B7-H7 tiene 3 conjuntos de inmunoglobulina (Ig) distintivos (IgV-IgC-IgV) en su dominio extracelular y comparte ~20% de homología en la secuencia de proteína con otras moléculas de la familia B7. B7-H7 tiene también un dominio intracelular irregular sin ninguna homología significativa con otras moléculas de la familia B7 y sin motivos obvios de transducción de señales, un rasgo distintivo de las moléculas de la familia B7.

Mediante el examen del proteoma de receptor-ligando con B7-H7Ig, se identificó una pareja de unión a B7-H7 denominada proteína 2 que contiene dominio transmembrana y de inmunoglobulina (TMIGD2) (ID de gen 126259)  
20 (figura 8). Similar a B7-H7, no se le ha asignado función a este gen. En el presente documento este producto génico se renombró el contrarceptor para B7-H7 (B7-H7CR). B7-H7CR está ubicado en el cromosoma 19p13.3 y codifica para una proteína transmembrana con un único dominio de IgV extracelular y un dominio intracelular largo, que es estructuralmente similar a otros receptores de la familia B7 conocidos. Notablemente, el dominio intracelular de B7-H7CR también contiene tres residuos de tirosina, que son potencialmente sitios de acoplamiento para la transducción de la señalización. Globalmente, B7-H7CR comparte aproximadamente el 10% de homología de la secuencia de proteína con CD28, CTLA-4, ICOS y PD-1 (figura 9). Se generó un AcM específico para tanto B7-H7 como B7-H7CR humano. Mediante transfección de células 293T con el gen de B7-H7CR, se demostró que la expresión de B7-H7CR en la superficie celular mediante tinción con AcM anti-B7-H7CR (clon 4-5) en análisis de citometría de flujo B7-H7Ig se unía fuertemente a células 293T B7-H7CR+ pero no a células transfectadas de manera simulada (figura 10A). De manera similar, B7-H7CRIg también se unía a células que se transfectaron con el gen de B7-H7, pero no a células transfectadas de manera simulada. La inclusión de AcM frente a B7-H7 (clon 2D3) bloqueó completamente esta interacción (figura 11). Se excluyó la posible reactividad cruzada entre B7-H7CR y otros ligandos de la familia B7 conocidos mediante tinción con B7-H7CRIg de células 293T transfectadas con B7-1, B7-2, B7-H1, B7-DC, B7-H2, B7-H3 (formas tanto 2Ig como 4Ig) y B7-H4 humanas (figura 12). Estos resultados indican tanto que B7-H7 se une específicamente a B7-H7CR y pueden representar un nuevo par en la familia B7-CD28.

El ARNm de B7-H7 es abundante en testículos, colon, pulmón, riñón y páncreas mientras que muestra niveles bajos en intestino delgado, hígado y músculo esquelético. En cambio, se encontró principalmente ARNm de B7-H7CR en órganos linfoides (figura 13); en timo y bazo lo más abundantemente, con linfocitos de sangre periférica (PBL) e hígado en segundo lugar. Consecuente con estos hallazgos, no se detectó B7-H7 en la superficie celular mediante AcM específico en células T, B, NK o neutrófilos en PBL humanos (figura 14). Sin embargo, macrófagos derivados de monocitos expresaban de manera constante B7-H7, y la activación de macrófagos con LPS, poli I:C, *Listeria monocytogenes* inactivada por calor (HKLM) o interferón-gamma reguló por incremento adicionalmente la expresión (figura 10B). También podrían inducirse células dendríticas (DC) inmaduras derivadas de monocitos mediante poli I:C o HKLM para que expresen B7-H7. Por otro lado, B7-H7CR se expresa de manera constitutiva en la mayoría de células T y NK, pero no en células B (figura 10C). Tomados conjuntamente, los patrones de expresión de B7-H7 y su contrarceptor sugieren sus papeles en la interacción de células presentadoras de antígenos profesionales con células T y NK.

Un rasgo distintivo de las moléculas de la familia B7 es su capacidad para coestimular o coinhibir respuestas de células T en presencia de antígeno (6). La B7-H7Ig que recubre la placa promovió fuertemente la proliferación de células T CD4+ así como la producción de IL-2, IFN- $\gamma$  e IL-10 en presencia de dosis subóptimas de AcM anti-CD3 (OKT3) (figura 10D). Además, el AcM frente a B7-H7CR en forma inmovilizada podía imitar el papel de B7-H7 potenciando la proliferación de células T o bien solo o bien en sinergia con el AcM frente a CD28 (figura 10E), sugiriendo una característica agonista de este AcM frente a B7-H7CR. Además, la inclusión de AcM frente a B7-H7 soluble (2D3) o B7-H7CRIg suprimió el efecto coestimulador de B7-H7 (figura 10F). Combinados juntos, estos resultados respaldan que la interacción de B7-H7 y B7-H7CR representa una ruta coestimuladora de células T novedosa que promueve el crecimiento de células T humanas.

Los mecanismos de estas parejas coestimuladoras recién descritas en la regulación de las respuestas inmunitarias aún tiene que dilucidarse (figura 15), especialmente en el contexto de otras rutas estimuladoras y coinhibidoras previamente descritas. Sin embargo, este sistema proteómico de receptor-ligando representa un enfoque prometedor para descubrir nuevas interacciones moleculares sobre la superficie celular. Con la expansión del proteoma para incluir todas las proteínas de la membrana plasmática, este sistema podría utilizarse para identificar cualquier par de receptor-ligando de la superficie celular en cuestión y entonces la significación debe estar más allá

de una mera comprensión del sistema inmunitario.

**6.3 Bibliografía**

5 A continuación está la lista de referencias mencionadas en la sección 6.

1. Dong, H., Zhu, G., Tamada, K., y Chen, L. 1999. B7-H1, a third member of the B7 family, co-stimulates T-cell proliferation and interleukin-10 secretion. *Nat Med* 5:1365-1369.

10 2. Tamura, H., Dong, H., Zhu, G., Sica, G.L., Flies, D.B., Tamada, K., y Chen, L. 2001. B7-H1 costimulation preferentially enhances CD28-independent T-helper cell function. *Blood* 97:1809-1816.

3. Wang, S., Bajorath, J., Flies, D.B., Dong, H., Honjo, T., y Chen, L. 2003. Molecular modeling and functional mapping of B7-H1 and B7-DC uncouple costimulatory function from PD-1 interaction. *J Exp Med* 197:1083-1091.

15 4. Lander, E.S., Linton, L.M., Birren, B., Nusbaum, C., Zody, M.C., Baldwin, J., Devon, K., Dewar, K., Doyle, M., FitzHugh, W., *et al.* 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409:860-921.

5. Venter, J.C., Adams, M.D., Myers, E.W., Li, P.W., Mural, R.J., Sutton, G.G., Smith, H.O., Yandell, M., Evans, C.A., Holt, R.A., *et al.* 2001. The sequence of the human genome. *Science* 291:1304-1351.

20 6. Chen, L. 2003. The B7-CD28 family molecules. Nueva York, N.Y.: Landes Bioscience/Eurekah.com; Kluwer Academic/Plenum. 141pp.

7. Chen, L. 2004. Co-inhibitory molecules of the B7-CD28 family in the control of T-cell immunity. *Nat Rev Immunol* 4:336-347.

25 8. Sharpe, A.H., y Freeman, G.J. 2002. The B7-CD28 superfamily. *Nat Rev Immunol* 2:116-126.

9. Linsley, P.S., Clark, E.A., y Ledbetter, J.A. 1990. T-cell antigen CD28 mediates adhesion with B cells by interacting with activation antigen B7/BB-1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87:5031-5035.

30 10. Yoshinaga, S.K., Whoriskey, J.S., Khare, S.D., Sarmiento, U., Guo, J., Horan, T., Shih, G., Zhang, M., Coccia, M.A., Kohno, T., *et al.* 1999. T-cell co-stimulation through B7RP-1 and ICOS. *Nature* 402:827-832.

35 11. Hutloff, A., Dittrich, A.M., Beier, K.C., Eljaschewitsch, B., Kraft, R., Anagnostopoulos, I., y Kroczeck, R.A. 1999. ICOS is an inducible T-cell co-stimulator structurally and functionally related to CD28. *Nature* 397:263-266.

12. Krummel, M.F., y Allison, J.P. 1995. CD28 and CTLA-4 have opposing effects on the response of T cells to stimulation. *J Exp Med* 182:459-465.

40 13. Walunas, T.L., Lenschow, D.J., Bakker, C.Y., Linsley, P.S., Freeman, G.J., Green, J.M., Thompson, C.B., y Bluestone, J.A. 1994. CTLA-4 can function as a negative regulator of T cell activation. *Immunity* 1:405-413.

45 14. van der Merwe, P.A., Bodian, D.L., Daenke, S., Linsley, P., y Davis, S.J. 1997. CD80 (B7-1) binds both CD28 and CTLA-4 with a low affinity and very fast kinetics. *J Exp Med* 185:393-403.

15. Freeman, G.J., Gribben, J.G., Boussiotis, V.A., Ng, J.W., Restivo, V.A., Jr., Lombard, L.A., Gray, G.S., y Nadler, L.M. 1993. Cloning of B7-2: a CTLA-4 counter-receptor that costimulates human T cell proliferation. *Science* 262:909-911.

50 16. Chattopadhyay, K., Bhatia, S., Fiser, A., Almo, S.C., y Nathenson, S.G. 2006. Structural basis of inducible costimulator ligand costimulatory function: determination of the cell surface oligomeric state and functional mapping of the receptor binding site of the protein. *J Immunol* 177:3920-3929.

55 17. Carreno, B.M., y Collins, M. 2002. The B7 family of ligands and its receptors: new pathways for costimulation and inhibition of immune responses. *Annu Rev Immunol* 20:29-53.

18. Fahrner, A.M., Bazan, J.F., Papathanasiou, P., Nelms, K.A., y Goodnow, C.C. 2001. A genomic view of immunology. *Nature* 409:836-838.

60

Tabla 1. Lista de clones de ADNc usados en el proteoma de receptor-ligando.

N.º	Lista de genes
1	ABCA1

ES 2 666 152 T3

2	ABCA3
3	ABCC4
4	ABCD3
5	ABCG1
6	ABCG2
7	ABI1
8	ACCN4
9	ACE
10	ACE2
11	ACSL3
12	ACTL6A
13	ACTN1
14	ACTN2
15	ACVR1
16	ACVR1B
17	ACVRL1
18	ACY3
19	ADAM10
20	ADAM17
21	ADAM2
22	ADAM23
23	ADAM8
24	ADCY7
25	ADD1
26	ADD2
27	ADD3
28	ADI1
29	ADORA2A
30	ADORA2B
31	ADORA3
32	ADRA2A
33	ADRB2
34	ADRM1
35	AGER
36	AGPAT3
37	AGPAT5
38	AGTRL1
39	AHCY
40	AIFM3
41	AIG1
42	AKAP7
43	AKR1A1
44	AKT1

ES 2 666 152 T3

45	AKTIP
46	ALCAM
47	ALDH3A2
48	ALEX1
49	ALG5
50	ALOX15
51	ALPL
52	ALPP
53	ALPPL2
54	AMBP
55	AMD
56	AMFR
57	AMICA1
58	AMIGO1
59	AMIGo2
60	AMIGo3
61	AMOTL2
62	AMPH
63	ANK1
64	ANKH
65	ANPEP
66	ANTXR2
67	ANXA1
68	ANXA2
69	AOC3
70	APlg1
71	APlg2
72	AP1M1
73	AP1M2
74	AP1S1
75	AP1S2
76	AP1S3
77	AP2A1
78	AP2A2
79	AP2B1
80	AP2M1
81	AP2S1
82	AP3B1
83	AP4B1
84	AP4M1
85	AP4S1
86	APBB1IP
87	APH1A

ES 2 666 152 T3

88	APLP1
89	APLP2
90	APOE
91	APOM
92	APP
93	APR-3
94	AQP3
95	AQP4
96	AQP7
97	AQP8
98	AQP9
99	ARC
100	ARC1
101	ARF5
102	ARF6
103	ARFIP2
104	ARHGAP1
105	ARHGAP17
106	ARHGEF1
107	ARRB1
108	ARRB2
109	ARSA
110	ART3
111	ART4
112	ASAM
113	ASGR1
114	ASGR2
115	AT1g16170
116	ATF4
117	ATP12A
118	ATP1A1
119	ATP1A2
120	ATP1A3
121	ATP1A4
122	ATP1B1
123	ATP1B2
124	ATP1B3
125	ATP2A2
126	ATP2A3
127	ATP2B4
128	ATP5G1
129	ATP6AP2
130	ATP6VOB

ES 2 666 152 T3

131	ATP6VOC
132	ATP6V1A
133	ATP6V1B1
134	ATP6V1E1
135	AUK1
136	AXIN1
137	AXL
138	AZGP1
139	B2M
140	B3GALT2
141	B3GALT3
142	B3GAT1
143	B3GAT3
144	B3GNT1
145	B3GNT3
146	B4GALT4
147	B7-DC
148	B7-H1
149	B7-H2
150	B7-H3
151	B7-H4
152	bA16L21.2.1
153	BACE1
154	BAIAP2
155	BASP1
156	BBP
157	BBS2
158	BCAM
159	BCAN
160	BCAP31
161	BCAR1
162	BCL10
163	BDKRB1
164	BEST1
165	BEST3
166	BFAR
167	BLCAP
168	BMPR1B
169	BMPR2
170	BNIP3
171	BNIP3L
172	BOC
173	BPI

ES 2 666 152 T3

174	BRI3
175	BSG
176	BST1
177	BST2
178	BTBD10
179	BTLA
180	BTN1A1
181	BTN2A1
182	BTN2A2
183	BTN2A3
184	BTN3A1
185	BTN3A2
186	BTN3A3
187	BTNL2
188	BTNL3
189	BTNL8
190	BTNL9
191	BZRP
192	C11orf90
193	C14orf1100
194	C18orf1
195	C18orf55
196	C1orf27
197	C1QBP
198	C22orf29
199	C2orf63
200	C3HC4
201	C5AR1
202	C5orf15
203	C9
204	C9orf58
205	CA12
206	CA9
207	CABP1
208	CACNA1g
209	CACNG3
210	CACNG4
211	CACNG6
212	CADM1
213	CADM2
214	CADM3
215	CADM4
216	CADPS

ES 2 666 152 T3

217	CALCYON
218	CALM1
219	CALM2
220	CALM3
221	CALR
222	CALY
223	CAMK1g
224	CANX
225	CAP1
226	CAP2
227	CAPN1
228	CAPN2
229	CAPNS1
230	CAPNS2
231	CAPRIN1
232	CARD14
233	CARKD
234	CAV1
235	CAV2
236	CCBP2
237	CCDC8
238	CCKBR
239	CCL14
240	CCNB1IP1
241	CCR1
242	CCR2
243	CCR3
244	CCR4
245	CCR5
246	CCR6
247	CCR7
248	CCR8
249	CCR9
250	CD14
251	CD151
252	CDR160
253	CD163
254	CD163L1
255	CD164
256	CD177
257	CD2180
258	CD19
259	CD1A

ES 2 666 152 T3

260	CR1B
261	CD1C
262	CH1D
263	CD1E
264	CD2
265	CD200
266	CD200R1
267	CD207
268	CD209
269	CD22
270	CD226
271	CD24
272	CD244
273	CD247
274	CD248
275	CD28
276	CD300A
277	CD300C
278	CD300LB
279	CD300LD
280	CD300LE
281	CD300LF
282	CD300LG
283	CD302
284	CD33
285	CD34
286	CD36
287	CD37
288	CD38
289	CD3D
290	CD3E
291	CD3G
292	CD4
293	CD44
294	CD45
295	CD47
296	CD48
297	CD5
298	CD52
299	CD53
300	CD55
301	CD58
302	CD59

ES 2 666 152 T3

303	CD5L
304	CD6
305	CD63
306	CD68
307	CD69
308	CD7
309	CD72
310	CD74
311	CD79A
312	CD79B
313	CD80
314	CD281
315	CD82
316	CD83
317	CD84
318	CD86
319	CD8A
320	CD8B
321	CD9
322	CD90
323	CD93
324	CD96
325	CD97
326	CD99
327	CDC42
328	CDC42EP2
329	CDC42EP5
330	CDC42SE1
331	CDCP1
332	CDH1
333	CDH11
334	CDH12
335	CDH15
336	CDH16
337	CDH18
338	CDH19
339	CDH2
340	CDH23
341	CDH24
342	CDH3
343	CDH5
344	CDH6
345	CDH7

ES 2 666 152 T3

346	CDH8
347	CDH9
348	CDIPT
349	CDON
350	CDS1
351	CDSN
352	CEACAM1
353	CEACAM19
354	CEACAM21
355	CEACAM3
356	CEACAM4
357	CEACAM5
358	CEACAM6
359	CEACAM7
360	CEACAM8
361	CECR1
362	CENTA1
363	CENTA2
364	CENTD3
365	CERCAM
366	CHAF1B
367	CHIC2
368	CHL1
369	CHRM1
370	CHRM3
371	CHRNA1
372	CHRNA3
373	CHRNA5
374	CHRNA6
375	CHRNA7
376	CHRNB1
377	CHST10
378	CILP1
379	CISH
380	CKLFSF6
381	CLCA2
382	CLCN2
383	CLCN7
384	CLCNKA
385	CLCNKB
386	CLDN1
387	CLDN10
388	CLDN11

ES 2 666 152 T3

389	CLDN14
390	CLDN15
391	CLDN19
392	CLDN2
393	CLDN3
394	CLDN4
395	CLDN5
396	CLDN6
397	CLDN7
398	CLDN8
399	CLDN9
400	CLEC10A
401	CLEC12A
402	CLEC1A
403	CLEC2B
404	CLEC2D
405	CLEC4C
406	CLEC4M
407	CLEC9A
408	CLIC1
409	CLIC2
410	CLIC4
411	CLMN
412	CLN3
413	CLPTM1
414	CLSTN3
415	CLTA
416	CLTB
417	CLTC
418	CNIH
419	CNKSR1
420	CNN2
421	CNNM3
422.	CNPY2
423	CNTFR
424	CNTFR
425	CNTN1
426	CNTN2
427	CNTN4
428	CNTN6
429	COMT
430	COX10
431	COX4I1

ES 2 666 152 T3

432	COX6C
433	COX7A2L
434	CPE
435	CPEB1
436	CPM
437	CPR8
438	CR2
439	CRB3
440	CREG
441	CRIPT
442	CRK
443	CRLF1
444	CRTAC1
445	CRTAM
446	CSF1
447	CSF1R
448	CSF2RA
449	CSF2RB
450	CSF3R
451	CSK
452	CSNK2A1
453	CTGF
454	CTLA4
455	CTNNA1
456	CTNNA2
457	CTNNA3
458	CTNNAL1
459	CTNNB1
460	CTNND1
461	CTNS
462	CTSB
463	CUTL1
464	CUX1
465	CX3CL1
466	CX3CR1
467	CXADR
468	CXCL16
469	CXCR3
470	CXCR4
471	CXCR5
472	CXCR6
473	CXorf61
474	CYB561

ES 2 666 152 T3

475	CYB5R1
476	CYBB
477	CYFIP1
478	CYFIP2
479	CYP2J2
480	CYP39A1
481	CYSLTR1
482	DAB2
483	DAD1
484	DAG1
485	DARC
486	DCBLD2
487	DDR1
488	DEAF1
489	DEF6
490	DEGS1
491	DES
492	DGKA
493	DHCR7
494	DIAPH1
495	D103
496	DIRAS2
497	DIXDC1
498	DKFZp686024166
499	DKK1
500	DLG2
501	DLG5
502	DLGAP1
503	DNAJD1
504	DNM1
505	DNM2
506	DOC2A
507	Dok2
508	DPAGT1
509	DPEP1
510	DPP4
511	DRD2
512	DRD5
513	DTNA
514	DTNBP1
515	DUSP15
516	EB12
517	EB 13

ES 2 666 152 T3

518	ECEL1
519	ECRG4
520	EDAR
521	EDG1
522	EDNRB
523	EEF1A2
524	EFNA1
525	EFNA3
526	EFNA5
527	EFNB1
528	EFNB3
529	EHD2
530	EI24
531	EIF2B1
532	ELMO1
533	ELTD1
534	EMB
535	EMCN
536	EMP1
537	EMR2
538	ENAH
539	ENDOGL1
540	ENG
541	ENO1
542	ENO1P
543	ENO2
544	ENOX2
545	ENPEP
546	ENPP4
547	ENPP5
548	ENTPD1
549	ENTPD3
550	ENTPD8
551	EPB41
552	EPB41L2
553	EPB41L3
554	EPHA10
555	EPHA2
556	EPHA4
557	EPHA8
558	EPHB3
559	EPHB4
560	EPN1

ES 2 666 152 T3

561	ERBB2
562	ERBB3
563	ERMAP
564	ESAM
565	EVI2A
566	EVI2B
567	EVL
568	EXOC7
569	EXTL1
570	F2R
571	F2RL1
572	F3
573	FACT5
574	FADS2
575	FAF1
576	FAIM2
577	FAIM3
578	FAM118B
579	FAM127A
580	FAM20B
581	FAM57A
582	FAM62B
583	FBLIM1
584	FBXW7
585	FCAR
586	FCER1A
587	FCER1g
588	FCER2
589	FCG3A
590	FCGR1A
591	FCGR2A
592	FCGR2B
593	FCGR3A
594	FCGR3B
595	FCGRT
596	FCRL1
597	FCRL2
598	FCRL3
599	FCRL4
600	FCRL5
601	FCRLA
602	FERMT1
603	FEZ1

ES 2 666 152 T3

604	FFAR3
605	FGFBP1
606	FGFR1
607	FGFR1
608	FGFR2
609	FGFR4
610	FGRL1
611	FLOT1
612	FLOT2
613	FLRT1
614	FLRT3
615	FLT1
616	FLT3
617	FLT3LG
618	FLVCR1
619	FLVCR2
620	FNBP1
621	FOLH1
622	FOLR1
623	FPR1
624	FPR2
625	FRAS1
626	FRS2
627	FTH1
628	FURIN
629	FUT3
630	FUT9
631	FXD1
632	FXD2
633	FXD3
634	FXD5
635	FXD6
636	FYN
637	FZD6
638	FZD7
639	G3BP1
640	GABARAPL1
641	GABARAPL2
642	GABBR1
643	GABRA1
644	GABRA5
645	GABRB3
646	GABRD

ES 2 666 152 T3

647	GABRG2
648	GAK
649	GAL3ST1
650	GAP43
651	GAPDH
652	GBA2
653	GBAS
654	GBP1
655	GBP2
656	GBP5
657	GCA
658	GDPD2
659	GFRA1
660	GFRA2
661	GFRA3
662	GI24
663	GJA4
664	GJA5
665	GJB1
666	GJB2
667	GJB3
668	GJB4
669	GJB5
670	GJB6
671	GLRA2
672	GLRB
673	GM2A
674	GNA11
675	GNA14
676	GNA15
677	GNAS
678	GNAT2
679	GNAZ
680	GNB1
681	GNB1L
682	GNB2
683	GNB2L1
684	GNB3
685	GNB4
686	GNB5
687	GNG10
688	GNG11
689	GNG12

ES 2 666 152 T3

690	GNG3
691	GNG5
692	GNG7
693	GNGT1
694	GNGT2
695	GOLGA5
696	GOLM1
697	GOPC
698	GOT2
699	GP1BA
700	GP2
701	GP6
702	GP9
703	GPA33
704	GPAA1
705	GPBAR1
706	GPC1
707	GPC2
708	GPC3
709	GPC4
710	GPC5
711	GPD2
712	GPER
713	GPLD1
714	GPNMB
715	GPR1
716	GPR109A
717	GPR109B
718	GPR114
719	GPR132
720	GPR137B
721	GPR146
722	GPR153
723	GPR157
724	GPR160
725	GPR161
726	GPR162
727	GPR17
728	GPR171
729	GPR173
730	GPR176
731	GPR18
732	GPR182

ES 2 666 152 T3

733	GPR21
734	GPR3
735	GPR32
736	GPR34
737	GPR37
738	GPR39
739	GPR4
740	GPR45
741	GPR52
742	GPR55
743	GPR56
744	GPR61
745	GPR63
746	GPR64
747	GPR65
748	GPR75
749	GPR77
750	GPR82
751	GPR83
752	GPR87
753	GPR97
754	GPRC5A
755	GPRC5C
756	GRASP
757	GRB10
758	GRIA2
759	GRIK2
760	GYPA
761	GYPB
762	GYPC
763	GZMA
764	GZMB
765	HAPLN1
766	HAPLN2
767	HAPLN3
768	HAS1
769	HAS3
770	HBEGF
771	HDAC11
772	HDLBP
773	HEPACAM
774	HEPACAM2
775	HEXB

ES 2 666 152 T3

776	HFE2
777	HHAT
778	HHIP
779	HHLA2
780	HIG1
781	HIGD1A
782	HIP1R
783	HLA-A
784	HLA-B
785	HLA-C
786	HLA-DMA
787	HLA-DMB
788	HLA-DOA
789	HLA-DOB
790	HLA-DPA1
791	HLA-DPB1
792	HLA-DQA1
793	HLA-DQB1
794	HLA-DQB2
795	HLA-DQB3
796	HLA-DRA
797	HLA-DRB1
798	HLA-DRB3
799	HLA-E
800	HLA-F
801	HLA-G
802	HMOX1
803	HMOX2
804	HNRNPM
805	HNT
806	HOMER1
807	HOMER2
808	HOMER3
809	HPN
810	HPS1
811	HRAS
812	HRH2
813	HSD11B1
814	HSD17B10
815	HSP90B1
816	HSPC154
817	HT017
818	HTGN29

ES 2 666 152 T3

819	HTR1D
820	HTR2A
821	HTR2B
822	HTR3A
823	HYAL2
824	I11RA
825	ICAM1
826	ICAM2
827	ICAM3
828	ICAM4
829	ICAM5
830	ICOS
831	IFITM3
832	IFNAR1
833	IFNAR2
834	IFNGR1
835	IFT140
836	IGDCC3
837	IGF1R
838	IGHA1
839	IGLL1
840	IGSF1
841	IGSF2
842	IGSF3
843	IGSF6
844	IGSF8
845	IGSF9
846	IL10RA
847	IL10RB
848	IL11RA
849	IL12RB1
850	IL13RA1
851	IL15
852	IL17RA
853	IL17RB
854	IL17RC
855	IL18R1
856	IL1R1
857	IL1R2
858	IL1RAP
859	IL1RAPL1
860	IL1RAPL2
861	IL1RL1

ES 2 666 152 T3

862	IL1RL2
863	IL27RA
864	IL2RA
865	IL2RB
866	IL2RG
867	IL3RA
868	IL5RA
869	IL6R
870	IL6RB
871	IL7R
872	IL8RA
873	IL8RB
874	IL9R
875	ILK
876	INSIG1
877	IRAK1
878	ISLR
879	ISLR2
880	ISY1
881	ITFG1
882	ITFG2
883	ITFG3
884	ITGA2B
885	ITGA3
886	ITGA5
887	ITGA7
888	ITGA9
889	ITGAE
890	ITGAM
891	ITGAX
892	ITGB21
893	ITGB2
894	ITGB3
895	ITGB5
896	ITGB6
897	ITGB7
898	ITGB8
899	ITGBL1
900	ITM2A
901	ITM2B
902	JAG1
903	JAM1
904	JAM2

## ES 2 666 152 T3

905	JAM3
906	JM4
907	JMJD6
908	JPH3
909	JTB
910	JUB
911	JUP
912	KAZALD1
913	KCNA2
914	KCN D2
915	KCNE1
916	KCNE1L
917	KCNE3
918	KCNRG1
919	KCNG4
920	KCN H2
921	KCNIP1
922	KCNIP2
923	KCNIP3
924	KCNIP4
925	KCNJ11
926	KCNJ12
927	KCNJ14
928	KCNJ15
929	KCNJ8
930	KCNK1
931	KCNK6
932	KCNMB1
933	KCNMB2
934	KCNMB4
935	KCNN3
936	KCNN4
937	KCNQ2
938	KCNRG
939	KCNS2
940	KCNS3
941	KCTD10
942	KCTD110
943	KCTD12
944	KCTD15
945	KCTD17
946	KCTD20
947	KCTD5

ES 2 666 152 T3

948	KCTD6
949	KCTD9
950	KDELC1
951	KDELR2
952	KDR
953	KDSR
954	KEL
955	KIR2DL1
956	KIR2DL3
957	KIR2DL4
958	KIR2DS2
959	KIR2DS4
960	KIR3DL1
961	KIRREL
962	KIRREL2
963	KIRREL3
964	KISSIR
965	KIT
966	KITLG
967	KLRB1
968	KLRC1
969	KLRD1
970	KLRK1
971	KRAS
972	KRT19
973	KRT8
974	L1CAM
975	LAG3
976	LAIR1
977	LAIR2
978	LAMP1
979	LAMP2
980	LAPTM5
981	LAT
982	LAT2
983	LBR
984	LCK
985	LCP1
986	LDLRAP1
987	LEPR
988	LEPROT
989	LEPROTL1
990	LETM1

ES 2 666 152 T3

991	LETMD1
992	LFA3
993	LGALS3
994	LGALS4
995	LGR6
996	LILRA1
997	LILRA2
998	LILRA3
999	LILRA4
1000	LILRA5
1001	LILRB1
1002	LILRB2
1003	LILRB3
1004	LILRB4
1005	LILRB5
1006	LIMA1
1007	LIME1
1008	LIMS1
1009	LIMS2
1010	LIN7C
1011	LINGO1
1012	LINGO2
1013	LINGO4
1014	LMBRIL
1015	LOC100128783
1016	L0051233
1017	L00552891
1018	LOC727811
1019	LPAR1
1020	LPAR2
1021	LPAR4
1022	LPAR5
1023	LPHN1
1024	LPL
1025	LR8
1026	LRFN1
1027	LRFN2
1028	LRFN3
1029	LRFN4
1030	LRFN5
1031	LRIG1
1032	LRIG2
1033	LRIG3

ES 2 666 152 T3

1034	LRIT1
1035	LRIT3
1036	LRMP
1037	LRP10
1038	LRP12
1039	LRP3
1040	LRRC4
1041	LRRC4C
1042	LRRC5
1043	LRRC59
1044	LRRN1
1045	LRRN2
1046	LRRN3
1047	LRRN4
1048	LRRTM2
1049	LSAMP
1050	LSP1
1051	LSR
1052	LST1
1053	LTB
1054	LTB4R
1055	LY6D
1056	LY6G6F
1057	LY6H
1058	LY86
1059	LY9
1060	LY96
1061	LYNX1
1062	LYPD1
1063	LYVE1
1064	M6PR
1065	MADCAM1
1066	MAEA
1067	MAG
1068	MAGEA1
1069	MAGED1
1070	MAGEE1
1071	MAGEH1
1072	MAL
1073	MAL2
1074	MALL
1075	MAMC1
1076	MAOB

## ES 2 666 152 T3

1077	MAP4K2
1078	MAP7
1079	MARCKS
1080	MARCKSL1
1081	MARK2
1082	MARVELD2
1083	MAST1
1084	MBP
1085	MC1R
1086	MC2R
1087	MCAM
1088	MCF2L
1089	MCHR1
1090	MCL1
1091	MCOLN1
1092	MDK
1093	MDS032
1094	MEGF10
1095	MERTK
1096	MEST
1097	MF12
1098	MFA3L
1099	MFAP3
1100	MGAT4B
1101	MGC31957
1102	MGEA6
1103	MICA
1104	MICB
1105	MIR16
1106	MLANA
1107	MMD
1108	MME
1109	MMP14
1110	MMP15
1111	MOG
1112	MPZ1
1113	MPP2
1114	MPP3
1115	MPP6
1116	MPV17
1117	MPZ
1118	MPZL1
1119	MPZL2

ES 2 666 152 T3

1120	MPZL3
1121	MR1
1122	MRAP
1123	MRAS
1124	MRC2
1125	MRGPRF
1126	MRGPRX2
1127	MRGPRX3
1128	MS4A1
1129	MSLN
1130	MSR1
1131	MTFR1
1132	MTUS1
1133	MUC1
1134	MUC18
1135	MUC20
1136	MUPCDH
1137	MUSK
1138	MXRA8
1139	MYCBP
1140	MYH9
1141	MYOP1C
1142	N2DL1
1143	N2DL2
1144	NAE1
1145	NCAM1
1146	NCAM2
1147	NCF4
1148	NCKAP1
1149	NCKAP1L
1150	NCR1
1151	NCR2
1152	NCR3
1153	NDRG1
1154	NDUFA3
1155	NDUFA4
1156	NDUFB1
1157	NDUFB6
1158	NDUFB8
1159	NECAP1
1160	NECAP2
1161	NEGR1
1162	NELF

ES 2 666 152 T3

1163	NELL2
1164	NEO1
1165	NEU1
1166	NF2
1167	NFAM1
1168	NFE2L3
1169	NINJ2
1170	NKD1
1171	NKD2
1172	NKG2C
1173	NKG2D
1174	NKG7
1175	NLE1
1176	NLGN1
1177	NLGN4Y
1178	NMUR1
1179	NMUR2
1180	NOSTRIN
1181	NOTCH2NL
1182	NOTCH4
1183	NOX4
1184	NOXA1
1185	NOXO1
1186	NPBWR2
1187	NPC1
1188	NPHP1
1189	NPHS2
1190	NPTN
1191	NPY1R
1192	NPY5R
1193	NRAS
1194	NRCAM
1195	NRG1
1196	NRN1
1197	NRP1
1198	NT5E
1199	NTM
1200	NTNG1
1201	NTNG2
1202	NTRK1
1203	NTRK2
1204	NTRK3
1205	NTT73

ES 2 666 152 T3

1206	NUMB
1207	NUP85
1208	OCLN
1209	OLR1
1210	OMG
1211	OPCML
1212	OPN3
1213	OPRL1
1214	OPRS1
1215	OR2L13
1216	OR51E1
1217	ORS1E2
1218	OR9Q1
1219	ORAI1
1220	ORMDL1
1221	OSMR
1222	OSTM1
1223	P24B
1224	P2RX4
1225	P2RX5
1226	P2RX6
1227	P2RX7
1228	P2RY10
1229	P2RY11
1230	P2RY12
1231	P2RY13
1232	P2RY2
1233	P2RY6
1234	P2RY8
1235	PACSIN3
1236	PAG
1237	PAG1
1238	PALM
1239	PAM
1240	PANX1
1241	PAPLN
1242	PARD3
1243	PARD3B
1244	PARD6A
1245	PARVA
1246	PARVB
1247	PARVG
1248	PCDH1

ES 2 666 152 T3

1249	PCDH12
1250	PCDH17
1251	PCDH20
1252	PCDHA4
1253	PCDHB10
1254	PCDHB13
1255	PCDHB15
1256	PCDHB16
1257	PCDHB2
1258	PCDHB3
1259	PCDHB4
1260	PCDHB5
1261	PCDHB8
1262	PCDHGA2
1263	PCDHGB7
1264	PCDHGC3
1265	PCDHGC4
1266	POLO
1267	PCSK1N
1268	PDCD1
1269	PDE6A
1270	PDGFRA
1271	PDGFRB
1272	PDPK1
1273	PDPN
1274	PDZD3
1275	PECAM1
1276	PERP
1277	PEX11B
1278	PEX3
1279	PGRMC1
1280	PGRMC2
1281	PHB
1282	PHCA
1283	PHKA2
1284	PHKB
1285	PI4K2A
1286	PICALM
1287	PICK1
1288	PIGF
1289	PIGH
1290	PIGR
1291	PIGR3

ES 2 666 152 T3

1292	PIGY
1293	PILRB
1294	PIM1
1295	PIP4K2B
1296	PIP5K1A
1297	PIPSK1C
1298	PIP5K3
1299	PITPNC1
1300	PKP3
1301	PLAUR
1302	PLD2
1303	PLEKHA1
1304	PLSCR1
1305	PLSCR3
1306	PMEPA1
1307	PMP22
1308	PNN
1309	PNPLA2
1310	PODXL2
1311	POU2F1
1312	PP1201
1313	PPAN
1314	PPAP2A
1315	PPAP2B
1316	PPAP2C
1317	PPFIBP1
1318	PPP1R16A
1319	PPP2CA
1320	PPT1
1321	PRKAR2A
1322	PRKCZ
1323	PRMT7
1324	PRNP
1325	PROCR
1326	PROM1
1327	PRRG2
1328	PRSS8
1329	PRTG
1330	PSCA
1331	PSCD1
1332	PSCD2
1333	PSCD3
1334	PSD3

ES 2 666 152 T3

1335	PSD4
1336	PSEN1
1337	PSEN2
1338	PSENEEN
1339	PSKH1
1340	PSMG1
1341	PTDSS1
1342	PTGDR
1343	PTGER1
1344	PTGFR
1345	PTGFRN
1346	PTGIR
1347	PTGS2
1348	PTH2R
1349	PTHR1
1350	PTK2
1351	PTK2B
1352	PTK7
1353	PTN
1354	PTOV1
1355	PTP4A1
1356	PTP4A2
1357	PTP4A3
1358	PTPNS1
1359	PTPRA
1360	PTPRB
1361	PTPRC
1362	PTPRCAP
1363	PTPRD
1364	PTPRE
1365	PTPRF
1366	PTPRG
1367	PTPRH
1368	PTPRJ
1369	PTPRK
1370	PTPRN
1371	PTPRN2
1372	PTPRO
1373	PTPRR
1374	PTPRS
1375	PTPRT
1376	PTPRU
1377	PTRF

ES 2 666 152 T3

1378	PVR
1379	PVRL1
1380	PVRL2
1381	PVRL3
1382	PVRL4
1383	PXK
1384	PXMP3
1385	PXN
1386	RAB10
1387	RAB11A
1388	RAB13
1389	RAB14
1390	RAB18
1391	RAB1B
1392	RAB22A
1393	RAB23
1394	RAB25
1395	RAB26
1396	RAB2B
1397	RAB30
1398	RAB31
1399	RAB33A
1400	RAB35
1401	RAB38
1402	RAB39
1403	RAB39B
1404	RAB3A
1405	RAB3B
1406	RAB3C
1407	RAB3D
1408	RAB43
1409	RAB4B
1410	RAB5A
1411	RAB5B
1412	RAB5C
1413	RAB7L1
1414	RAB8B
1415	RAB9A
1416	RABAC1
1417	RAC1
1418	RAGE
1419	RALA
1420	RALB

ES 2 666 152 T3

1421	RAMP1
1422	RAMP2
1423	RAMP3
1424	RAP1A
1425	RAP1B
1426	RAP2B
1427	RAP2C
1428	RAPSN
1429	RASA3
1430	RASD1
1431	RASGRF1
1432	RASGRP3
1433	RASL10A
1434	RASL10B
1435	rbr-2
1436	RCP9
1437	RELL2
1438	RELT
1439	REM2
1440	RFTN2
1441	RGMA
1442	RGR
1443	RGS1
1444	RGS11
1445	RGS13
1446	RGS19
1447	RHAG
1448	RHBG
1449	RHCE
1450	RHCG
1451	RHD
1452	RHEB
1453	RHOB
1454	RHOC
1455	RHOD
1456	RHOF
1457	RHOH
1458	RHOJ
1459	RHOQ
1460	RIMBP2
1461	RIMS3
1462	RIN1
1463	RNASE1

ES 2 666 152 T3

1464	RNASE6
1465	RNF130
1466	RNF139
1467	RNF5
1468	RNPEP
1469	ROBO1
1470	ROBO2
1471	ROBO3
1472	ROBO4
1473	ROM1
1474	ROR1
1475	ROR2
1476	RP2
1477	RPH3A
1478	RPL21
1479	RPLPO
1480	RPS10
1481	RPS6KB1
1482	RPSA
1483	RRAGC
1484	RRAS
1485	RRAS2
1486	RTN4R
1487	RTP1
1488	RTP2
1489	RUNX1T1
1490	S100A7
1491	S1PR1
1492	S1PR4
1493	S1PR5
1494	SC4MOL
1495	SC5DL
1496	SCAMP1
1497	SCAMP3
1498	SCAMP5
1499	SCARB2
1500	SCN1B
1501	SCN2B
1502	SCN3B
1503	SCNN1A
1504	SCNN1B
1505	SCNN1D
1506	SCRG1

ES 2 666 152 T3

1507	SCTR
1508	SDC1
1509	SDC2
1510	SDCBP
1511	SDCBP2
1512	SDFR1
1513	SDPR
1514	SEC11A
1515	SEC6lg
1516	SECTM1
1517	SELE
1518	SELL
1519	SELP
1520	SELPLG
1521	SEMA3A
1522	SEMA3B
1523	SEMA3C
1524	SEMA3F
1525	SEMA4A
1526	SEMA4B
1527	SEMA4C
1528	SEMA4D
1529	SEMA4F
1530	SEMA4G
1531	SEMA5A
1532	SEMA6A
1533	SEMA6B
1534	SEMA7A
1535	SEPW1
1536	SERINC3
1537	SERP1
1538	SGCA
1539	SGCB
1540	SGCD
1541	SGMS1
1542	SH3BP4
1543	SH3KBP1
1544	SHC1
1545	SIGIRR
1546	SIGLEC1
1547	SIGLEC10
1548	SIGLEC11
1549	SIGLEC12

ES 2 666 152 T3

1550	SIGLEC5
1551	SIGLEC6
1552	SIGLEC7
1553	SIGLEC8
1554	SIGLEC9
1555	SILV
1556	SIRPA
1557	SIRPA1
1558	SIRPB2
1559	SIRPD
1560	SIRPG
1561	SIVA1
1562	SKAP2
1563	SLA2
1564	SLAMF1
1565	SLAMF5
1566	SLAMF6
1567	SLAMF7
1568	SLAMF8
1569	SLAMF9
1570	SLC11A1
1571	SLC11A2
1572	SLC12A1
1573	SLC12A4
1574	SLC12A7
1575	SLC14A1
1576	SLC16A14
1577	SLC16A4
1578	SLC16A5
1579	SLC16A6
1580	SLC17A5
1581	SLC17A7
1582	SLC18A3
1583	SLC19A1
1584	SLC1A2
1585	SLC1A3
1586	SLC1A4
1587	SLC1A5
1588	SLC1A6
1589	SLC20A1
1590	SLC20A2
1591	SLC22A11
1592	SLC22A12

ES 2 666 152 T3

1593	SLC22A18
1594	SLC22A2
1595	SLC22A4
1596	SLC22A5
1597	SLC22A6
1598	SLC22A7
1599	SLC22A8
1600	SLC23A1
1601	SLC23A2
1602	SLC25A11
1603	SLC25A12
1604	SLC25A13
1605	SLC25A17
1606	SLC25A3
1607	SLC25A4
1608	SLC25A5
1609	SLC26A2
1610	SLC26A6
1611	SLC29A1
1612	SLC29A2
1613	SLC2A2
1614	SLC2A3
1615	SLC2A4
1616	SLC2A5
1617	SLC2A6
1618	SLC2A8
1619	SLC2A9
1620	SLC30A5
1621	SLC30A9
1622	SLC31A1
1623	SLC31A2
1624	SLC33A1
1625	SLC34A1
1626	SLC35A1
1627	SLC35E3
1628	SLC38A1
1629	SLC38A2
1630	SLC38A3
1631	SLC38A5
1632	SLC39A1
1633	SLC39A4
1634	SLC39A5
1635	SLC39A6

ES 2 666 152 T3

1636	SLC40A1
1637	SLC41A2
1638	SLC41A3
1639	SLC43A1
1640	SLC44A1
1641	SLC46A1
1642	SLC46A2
1643	SLC47A1
1644	SLC4A1
1645	SLC4A4
1646	SLC5A6
1647	SLC6A13
1648	SLC6A15
1649	SLC6A18
1650	SLC6A6
1651	SLC6A8
1652	SLC7A1
1653	SLC7A10
1654	SLC7A11
1655	SLC7A3
1656	SLC7A5
1657	SLC7A6
1658	SLC7A7
1659	SLC7A8
1660	SLC7A9
1661	SLC9A3R1
1662	SLC9A3R2
1663	SLCO2A1
1664	SLIT1
1665	SMAD3
1666	SMAP1
1667	SMBP
1668	SMPD2
1669	SMPD3
1670	SNAP23
1671	SNAP25
1672	SNAP29
1673	SNN
1674	SNPH
1675	SNTB2
1676	SOD1
1677	SORBS3
1678	SPACA4

ES 2 666 152 T3

1679	SPC18
1680	SPCS1
1681	SPN
1682	SPRY2
1683	SQLE
1684	SRD5A1
1685	SREB3
1686	SRI
1687	SSFA2
1688	SSH1
1689	SSPN
1690	SSR1
1691	SSR2
1692	SSTR1
1693	SSTR2
1694	SSX2IP
1695	ST14
1696	ST3GAL5
1697	ST6GAL1
1698	ST6GALNAC6
1699	ST7
1700	STBD1
1701	STCH
1702	STEAP1
1703	STEAP4
1704	STIM1
1705	STOM
1706	STOML3
1707	STRA6
1708	STT3A
1709	STX12
1710	STX17
1711	STX1A
1712	STX1B
1713	STX3
1714	STX4
1715	STX6
1716	STX7
1717	STX8
1718	STXBP5
1719	STYK1
1720	SUCNR1
1721	SV2A

ES 2 666 152 T3

1722	SVOP
1723	SWAP70
1724	SYK
1725	SYMPK
1726	SYN2
1727	SYNGR1
1728	SYNGR2
1729	SYNGR3
1730	SYP
1731	SYPL1
1732	SYT1
1733	SYT11
1734	SYT12
1735	SYT15
1736	SYT5
1737	SYT6
1738	SYT9
1739	SYTL1
1740	SYTL2
1741	SYTL4
1742	TACSTD1
1743	TACSTD2
1744	TAOK3
1745	TAP2
1746	TAPBP
1747	TAPBPL
1748	TBL2
1749	TCIRG1
1750	TCP10
1751	TDGF1
1752	TDRKH
1753	TEGT
1754	TEX101
1755	TFG
1756	TFRC
1757	TGFA
1758	TGFB111
1759	TGFBR3
1760	TGM1
1761	TGM2
1762	TGOLN2
1763	THBD
1764	THEM4

ES 2 666 152 T3

1765	TIE1
1766	TIE2
1767	TIGIT
1768	TIMD1
1769	TIMD3
1770	TIMD4
1771	TJAP1
1772	TLR1
1773	TLR2
1774	TLR3
1775	TLR4
1776	TLR6
1777	TLR9
1778	TM4SF1
1779	TM4SF11
1780	TM4SF20
1781	TM4SF4
1782	TM7SF2
1783	TM7SF3
1784	TM9SF1
1785	TM9SF2
1786	TMBIM1
1787	TMED1
1788	TMED10
1789	TMED2
1790	TMED5
1791	TMEM106B
1792	TMEM11
1793	TMEM126B
1794	TMEM14A
1795	TMEM14C
1796	TMEM15
1797	TMEM150
1798	TMEM204
1799	TMEM25
1800	TMEM33
1801	TMEM46
1802	TMEM5
1803	TMEM50A
1804	TMEM50B
1805	TMEM8
1806	TMEM81
1807	TMEM86A

ES 2 666 152 T3

1808	TMEM9
1809	TMEPAI
1810	TMIGD1
1811	TMIGD2
1812	TMPRSS2
1813	TNFAIPI
1814	TNFRSF10A
1815	TNFRSF10B
1816	TNFRSF10C
1817	TNFRSF11A
1818	TNFRSF12A
1819	TNFRSF13B
1820	TNFRSF14
1821	TNFRSF16
1822	TNFRSF17
1823	TNFRSF18
1824	TNFRSF19
1825	TNFRSF1A
1826	TNFRSF1B
1827	TNFRSF21
1828	TNFRSF25
1829	TNFRSF27
1830	TNFRSF3
1831	TNFRSF4
1832	TNFRSF5
1833	TNFRSF6
1834	TNFRSF7
1835	TNFRSF8
1836	TNFRSF9
1837	TNFSF10
1838	TNFSF 11
1839	TNFSF12
1840	TNFSF13
1841	TNFSF13B
1842	TNFSF14
1843	TNFSF15
1844	TNFSF18
1845	TNFSF4
1846	TNFSF5
1847	TNFSF6
1848	TNFSF7
1849	TNFSF8
1850	TNFSF9

ES 2 666 152 T3

1851	TNK2
1852	TNS3
1853	TNS4
1854	TOLLIP
1855	TOMM20
1856	TOMM22
1857	TPARL
1858	TPSB2
1859	TRA
1860	TRAF7
1861	TRAJ17
1862	TRAT1
1863	TRAV20
1864	TRDV2
1865	TREM1
1866	TREM2
1867	TREM4b
1868	TREML1
1869	TREML2
1870	TREML4
1871	TRIM13
1872	TRIM27
1873	TRIP10
1874	TRIP6
1875	TRO
1876	TRPV2
1877	TRPV5
1878	TRPV6
1879	TSHR
1880	TSPAN13
1881	TSPAN15
1882	TSPAN2
1883	TSPAN-2
1884	TSPAN31
1885	TSPAN4
1886	TSPAN7
1887	TSPAN8
1888	TSPAN9
1889	TSPO
1890	TTYH1
1891	TTYH2
1892	TUBB3
1893	TUBB4

ES 2 666 152 T3

1894	TULP3
1895	TWF2
1896	TYRO3
1897	TYROBP
1898	TYRP1
1899	UBE2B
1900	UBE2J1
1901	UBL3
1902	UFO
1903	ULBP2
1904	UMOD
1905	UNC5A
1906	UNC5B
1907	UNC5C
1908	UNC5CL
1909	USE1
1910	USH1C
1911	VAMP1
1912	VAMP2
1913	VAMP3
1914	VAMP5
1915	VAPA
1916	VAPB
1917	VASP
1918	VCAM1
1919	VCL
1920	VDAC1
1921	VDAC2
1922	VDAC3
1923	VEPH1
1924	VIP
1925	VIPR1
1926	VIPR2
1927	VN1R1
1928	VPRE3
1929	VPREB1
1930	VSIG1
1931	VSIG2
1932	VSIG4
1933	VSIG8
1934	VSTM1
1935	WDR5
1936	WFIKKN2

1937	WIBG
1938	WNT2
1939	WRB
1940	XK
1941	XLKD1
1942	XPR1
1943	YIPF3
1944	YKT6
1945	ZAP70
1946	ZDHHC7
1947	ZMYND19
1948	ZNF662
1949	ZP2
1950	ZYX

**Lista de secuencias**

- 5 <110> JOHNS HOPKINS UNIVERSITY  
CHEN, LIEPING
- <120> MÉTODOS DE MODULACIÓN DE LA FUNCIÓN INMUNITARIA
- 10 <130> 12778-003-228
- <140>  
<141>
- 15 <150> 61/233.650  
<151> 13-08-2009
- <150> 61/289.951  
<151> 23-12-2009
- 20 <160> 26
- <170> FastSEQ para Windows versión 4.0
- 25 <210> 1  
<211> 302  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*
- 30 <220>  
<223> forma inmadura/precursora de isoforma 1 de B7-H2 humano nativo
- <400>

ES 2 666 152 T3

Met Arg Leu Gly Ser Pro Gly Leu Leu Phe Leu Leu Phe Ser Ser Leu  
 1 5 10 15  
 Arg Ala Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp  
 20 25 30  
 Val Glu Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn  
 35 40 45  
 Asp Val Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr  
 50 55 60  
 Tyr His Ile Pro Gln Asn Ser Ser Leu Glu Asn Val Asp Ser Arg Tyr  
 65 70 75 80  
 Arg Asn Arg Ala Leu Met Ser Pro Ala Gly Met Leu Arg Gly Asp Phe  
 85 90 95  
 Ser Leu Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His  
 100 105 110  
 Cys Leu Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val  
 115 120 125  
 Glu Val Thr Leu His Val Ala Ala Asn Phe Ser Val Pro Val Val Ser  
 130 135 140  
 Ala Pro His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser  
 145 150 155 160  
 Ile Asn Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp  
 165 170 175  
 Asn Ser Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn  
 180 185 190  
 Met Arg Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr  
 195 200 205  
 Pro Ser Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln  
 210 215 220  
 Asn Leu Thr Val Gly Ser Gln Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp  
 225 230 235 240  
 Lys Ile Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr  
 245 250 255  
 Trp Ser Ile Leu Ala Val Leu Cys Leu Leu Val Val Val Ala Val Ala  
 260 265 270  
 Ile Gly Trp Val Cys Arg Asp Arg Cys Leu Gln His Ser Tyr Ala Gly  
 275 280 285  
 Ala Trp Ala Val Ser Pro Glu Thr Glu Leu Thr Gly His Val  
 290 295 300

<210> 2  
 5 <211> 1572  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

<220>  
 10 <223> forma inmadura/precursora de B7-H2 humano nativo

<400> 2

ES 2 666 152 T3

```

gagtagagcc gatctcccgc gccccgaggt tgctcctctc cgaggtctcc cgcggcccaa 60
gttctccgcg ccccgaggtc tccgcgcccc gaggtctccg cggccccgagg tctccgcccc 120
caccatgicg ctgggcagtc ctggactget cttcctgctc ttcagcagcc ttcgagctga 180
tactcaggag aaggaagtca gagcagtggt aggcagcgac gtggagctca gctgcgcttg 240
ccctgaagga agccgttttg atttaaataga tgtttacgta tattggcaaa ccagtgagtc 300
gaaaaccgtg gtgacctacc acatcccaca gaacagctcc ttggaaaacg tggacagccg 360
ctaccggaac cgagccctga tgtcaccggc cggcatgctg cggggcgact tctccctgcg 420
cttgttcaac gtcaccccc aggacgagca gaagtttcac tgcttgggtg tgagccaatc 480
cctgggattc caggaggttt tgagcgttga ggttacctg catgtggcag caaacttcag 540
cgtgcccgtc gtcagcgcgc cccacagccc ctcccagat gagctcacct tcacgtgtac 600
atccataaac ggctaccca ggcccaacgt gtactggatc aataagacgg acaacagcct 660
gctggaccag gctctgcaga atgacaccgt cttcttgaac atgcggggct tgtatgacgt 720
ggtcagcgtg ctgaggatcg cacggacccc cagcgtgaac attggctgct gcatagagaa 780
cgtgcttctg cagcagaacc tgactgtcgg cagccagaca ggaaatgaca tcggagagag 840
agacaagatc acagagaatc cagtcagtac cggcgagaaa aacgcggcca cgtggagcat 900
cctggctgtc ctgtgcctgc ttgtggctcg ggcggtggcc ataggctggg tgtgcagggg 960
ccgatgcctc caacacagct atgcaggtgc ctgggctgtg agtccggaga cagagctcac 1020
tggccacggt tgaccggagc tcaccgccc gagcgtggac agggcttcca tgagacgcca 1080
ccgtgagagg ccaggaggca gcttgagcat ggactcccag actgcagggg agcacttggg 1140
gcagcccca gaaggaccac tgctggatcc cagggagaac ctgctggcgt tggtgtgat 1200
cctggaatga ggccctttca aaagcgtcat ccacacaaa ggcaaatgtc cccaagtgag 1260
tgggctcccc gctgtcactg ccagtcaccc acaggaaggg actggtgatg ggctgtctct 1320
acccggagcg tgcgggattc agcaccaggc tcttcccagt accccagacc cactgtggg 1380
cttcccgtgg gatgcgggat cctgagaccg aagggtgttt ggtttaaaaa gaagactggg 1440
cgtccgctct tccaggacgg cctctgtgct gctgggtca cgcgaggctg tttgcagggg 1500
acacggtcac aggagctctt ctgccctgaa cgcttccaac ctgctccggc cggaagccac 1560
aggaccact ca 1572

```

<210> 3

<211> 414

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> forma inmadura/precursora de B7-H7 humano nativo

10

<400> 3

```

Met Lys Ala Gln Thr Ala Leu Ser Phe Phe Leu Ile Leu Ile Thr Ser
 1          5          10          15
Leu Ser Gly Ser Gln Gly Ile Phe Pro Leu Ala Phe Phe Ile Tyr Val
 20          25          30
Pro Met Asn Glu Gln Ile Val Ile Gly Arg Leu Asp Glu Asp Ile Ile
 35          40          45
Leu Pro Ser Ser Phe Glu Arg Gly Ser Glu Val Val Ile His Trp Lys
 50          55          60
Tyr Gln Asp Ser Tyr Lys Val His Ser Tyr Tyr Lys Gly Ser Asp His
 65          70          75          80
Leu Glu Ser Gln Asp Pro Arg Tyr Ala Asn Arg Thr Ser Leu Phe Tyr
 85          90          95

```

ES 2 666 152 T3

Asn Glu Ile Gln Asn Gly Asn Ala Ser Leu Phe Phe Arg Arg Val Ser  
 100 105 110  
 Leu Leu Asp Glu Gly Ile Tyr Thr Cys Tyr Val Gly Thr Ala Ile Gln  
 115 120 125  
 Val Ile Thr Asn Lys Val Val Leu Lys Val Gly Val Phe Leu Thr Pro  
 130 135 140  
 Val Met Lys Tyr Glu Lys Arg Asn Thr Asn Ser Phe Leu Ile Cys Ser  
 145 150 155 160  
 Val Leu Ser Val Tyr Pro Arg Pro Ile Ile Thr Trp Lys Met Asp Asn  
 165 170 175  
 Thr Pro Ile Ser Glu Asn Asn Met Glu Glu Thr Gly Ser Leu Asp Ser  
 180 185 190  
 Phe Ser Ile Asn Ser Pro Leu Asn Ile Thr Gly Ser Asn Ser Ser Tyr  
 195 200 205  
 Glu Cys Thr Ile Glu Asn Ser Leu Leu Lys Gln Thr Trp Thr Gly Arg  
 210 215 220  
 Trp Thr Met Lys Asp Gly Leu His Lys Met Gln Ser Glu His Val Ser  
 225 230 235 240  
 Leu Ser Cys Gln Pro Val Asn Asp Tyr Phe Ser Pro Asn Gln Asp Phe  
 245 250 255  
 Lys Val Thr Trp Ser Arg Met Lys Ser Gly Thr Phe Ser Val Leu Ala  
 260 265 270  
 Tyr Tyr Leu Ser Ser Ser Gln Asn Thr Ile Ile Asn Glu Ser Arg Phe  
 275 280 285  
 Ser Trp Asn Lys Glu Leu Ile Asn Gln Ser Asp Phe Ser Met Asn Leu  
 290 295 300  
 Met Asp Leu Asn Leu Ser Asp Ser Gly Glu Tyr Leu Cys Asn Ile Ser  
 305 310 315 320  
 Ser Asp Glu Tyr Thr Leu Leu Thr Ile His Thr Val His Val Glu Pro  
 325 330 335  
 Ser Gln Glu Thr Ala Ser His Asn Lys Gly Leu Trp Ile Leu Val Pro  
 340 345 350  
 Ser Ala Ile Leu Ala Ala Phe Leu Leu Ile Trp Ser Val Lys Cys Cys  
 355 360 365  
 Arg Ala Gln Leu Glu Ala Arg Arg Ser Arg His Pro Ala Asp Gly Ala  
 370 375 380  
 Gln Gln Glu Arg Cys Cys Val Pro Pro Gly Glu Arg Cys Pro Ser Ala  
 385 390 395 400  
 Pro Asp Asn Gly Glu Glu Asn Val Pro Leu Ser Gly Lys Val  
 405 410

<210> 4

<211> 2689

5 <212> ADN

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> forma inmadura/precursora de B7-H7 humano nativo

10

<400> 4

ES 2 666 152 T3

```

agttctcttc aagtcattgta atcgactttt ttgaattagt tttcagtttc attttgtttt 60
ccctaattca agttgggaac acttcatttt ccccaattca agttgggaac acttccttgg 120
tatttccttg ctacatggac tttagcaaat gctactttac tctccttcca gctactcagg 180
aggctgaggc aggagaatcg cttgaacccg ggaggcggag gttacagtga gccttttctt 240
agttttactg ttggaagcct aactcacagg agagattatg caatacagtc ctgaagtcaa 300
ggaaggagag catgtaggag aataactaacc ctgcacagat tgtgatggtg atgtggaata 360
tactaaagcc tagaacgcac ctccctctgca tgactaatat gttctgcaca agacatgaag 420
gcacagacag cactgtcttt ctccctcatt ctcataacat ctctgagtgg atctcaaggc 480
atattccctt tggctttctt catttatggt cctatgaatg aacaaatcgt cattggaaga 540
cttgatgaag atataattct cccttcttca tttgagaggg gatccgaagt cgtaatacac 600
tgggaagtatc aagatagcta taaggttcat agttactaca aaggcagtga ccatttggaa 660
agccaagatc ccagatagtc aaacaggaca tcccttttct ataatgagat tcaaaatggg 720
aatgcgtcac taattttcag aagagtaagc cttctggacg aaggaattta cactgtctat 780
gtaggaacag caattcaagt gattacaaac aaagtgggac taaaggtggg agtttttctc 840
acaccctgta tgaagtatga aaagaggaac acaaacagct tcttaatatg cagcgtgtta 900
agtgtttatc ctctgccaat tatcacgtgg aaaatggaca acacacctat ctctgaaaac 960
aacatggaag aaacagggtc tttggattct ttttctatta acagcccact gaatattaca 1020
ggatcaaatt catcttatga atgtacaatt gaaaattcac tgctgaagca aacatggaca 1080
gggcgctgga cgatgaaaga tggccttcat aaaatgcaa gtgaacacgt ttcactctca 1140
tgtcaacctg taaatgatta tttttcacca aaccaagact tcaaagttac ttggtccaga 1200
atgaaaagtg ggactttctc tgtcctggct tactatctga gctcctcaca aaatacaatt 1260
atcaatgaat cccgattctc atggaacaaa gagctgataa accagagtga cttctctatg 1320
aatttgatgg atcttaattct ttcagacagt ggggaatatt tatgcaatat ttcttggat 1380
gaataactt tacttaccat ccacacagtg catgtagaac cgagccaaga aacagcttcc 1440
cataacaaag gcttatggat tttggtgcc tctgcgattt tggcagcttt tctgctgatt 1500
tggagcgtaa aatggtgcag agcccagcta gaagccagga ggagcagaca ccctgctgat 1560
ggagcccaac aagaaagatg ttgtgtccct cctggtgagc gctgtccag tgcaccgat 1620
aatggcgaag aaaatgtgcc tctttcagga aaagtatagg aaatgagaga agactgtgac 1680
aactcatgac ctgcatcctt aatatccagt gacttcatct cccctttctt caccacaatt 1740
ccaggcaatg gcctgtcgga ccagacaatt ctaccactgc aaagagttgt aaccattttc 1800
tggatcaca tttatttttc aagacatact tttcaagaca tcattcactg acccactacc 1860
tgcattgagt ataaatgcct ggatgttaag gattccaatt taactttgaa aagaactgtc 1920
tcattcattt acatttctgt tacagtcagc ccaggagggt acagtgagct ctccactaag 1980
aatctggaag aaatgcatca ctaggggttg attcccaatc tgatcaactg ataatgggtg 2040
agagagcagg taagagccaa agtcacctta gtggaaagg taaaaaccag agcctggaaa 2100
ccaagatgat tgatttgaca aggtatttta gtctagtttt atatgaacgg ttgtatcagg 2160
gtaaccaact cgatttggga tgaatcttag ggcaccaag actaagacag tatctttaag 2220
attgctaggg aaaagggccc tatgtgtcag gcctctgagc ccaagccaag catcgcatcc 2280
cctgtgattt gcacgtatac atccagatgg cctaaagtaa ctgaagatcc acaaaagaag 2340
taaaaatagc cttaactgat gacattccac cattgtgatt tgttctgccc ccaccctaac 2400
tgatcaatgt actttgtaat ctccccacc cttagaagg tactttgtaa tcttccccac 2460
ccttaagaag gttctttgta attctcccca cccttgagaa tgtactttgt gagatccacc 2520
ctgccacaa aacattgctc ttaacttcac cgcctaacc aaaacctata agaactaatg 2580
ataatccatc acccttcgct gactctcttt tgggactcag cccacctgca cccaggtgaa 2640
ataaacagct ttattgctca aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa 2689

```

<210> 5  
 5 <211> 282  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<220>  
 10 <223> forma inmadura/precursora de B7-H7CR humano nativo

<400> 5

ES 2 666 152 T3

Met Gly Ser Pro Gly Met Val Leu Gly Leu Leu Val Gln Ile Trp Ala  
 1 5 10 15  
 Leu Gln Glu Ala Ser Ser Leu Ser Val Gln Gln Gly Pro Asn Leu Leu  
 20 25 30  
 Gln Val Arg Gln Gly Ser Gln Ala Thr Leu Val Cys Gln Val Asp Gln  
 35 40 45  
 Ala Thr Ala Trp Glu Arg Leu Arg Val Lys Trp Thr Lys Asp Gly Ala  
 50 55 60  
 Ile Leu Cys Gln Pro Tyr Ile Thr Asn Gly Ser Leu Ser Leu Gly Val  
 65 70 75 80  
 Cys Gly Pro Gln Gly Arg Leu Ser Trp Gln Ala Pro Ser His Leu Thr  
 85 90 95  
 Leu Gln Leu Asp Pro Val Ser Leu Asn His Ser Gly Ala Tyr Val Cys  
 100 105 110  
 Trp Ala Ala Val Glu Ile Pro Glu Leu Glu Glu Ala Glu Gly Asn Ile  
 115 120 125  
 Thr Arg Leu Phe Val Asp Pro Asp Asp Pro Thr Gln Asn Arg Asn Arg  
 130 135 140  
 Ile Ala Ser Phe Pro Gly Phe Leu Phe Val Leu Leu Gly Val Gly Ser  
 145 150 155 160  
 Met Gly Val Ala Ala Ile Val Trp Gly Ala Trp Phe Trp Gly Arg Arg  
 165 170 175  
 Ser Cys Gln Gln Arg Asp Ser Gly Asn Ser Pro Gly Asn Ala Phe Tyr  
 180 185 190  
 Ser Asn Val Leu Tyr Arg Pro Arg Gly Ala Pro Lys Lys Ser Glu Asp  
 195 200 205  
 Cys Ser Gly Glu Gly Lys Asp Gln Arg Gly Gln Ser Ile Tyr Ser Thr  
 210 215 220  
 Ser Phe Pro Gln Pro Ala Pro Arg Gln Pro His Leu Ala Ser Arg Pro  
 225 230 235 240  
 Cys Pro Ser Pro Arg Pro Cys Pro Ser Pro Arg Pro Gly His Pro Val  
 245 250 255  
 Ser Met Val Arg Val Ser Pro Arg Pro Ser Pro Thr Gln Gln Pro Arg  
 260 265 270  
 Pro Lys Gly Phe Pro Lys Val Gly Glu Glu  
 275 280

<210> 6

5 <211> 1276

<212> ADN

<213> *Homo sapiens*

<220>

10 <223> forma inmadura/precursora de B7-H7CR humano nativo

<400> 6

```

ggaagtctgt ccaactgggag ggggagaggg ggggtgatggg ccaggaatgg ggtccccggg 60
catgggtgctg ggcctcctgg tgcagatctg ggccctgcaa gaagcctcaa gcctgagcgt 120
gcagcagggg cccaacttgc tgcaggtgag gcagggcagt cagggcagcc tgggtctgcca 180
gggtggaccag gccacagcct gggaacggct ccgtgttaag tggacaaagg atggggccat 240
cctgtgtcaa ccgtacatca ccaacggcag cctcagcctg ggggtctgcg ggccccaggg 300
acggctctcc tggcaggcac ccagccatct caccctgcag ctggaccctg tgagcctcaa 360
ccacagcggg gcgtacgtgt gctgggcggc cgtagagatt cctgagttgg aggaggctga 420
gggcaacata acaaggetct ttgtggaccc agatgacccc acacagaaca gaaaccggat 480
cgcaagcttc ccaggattcc tcttcgtgct gctgggggtg ggaagcatgg gtgtggctgc 540
gatcgtgtgg ggtgcctggt tctggggccg ccgcagctgc cagcaaaggg actcaggtaa 600
cagcccagga aatgcattct acagcaacgt cctataccgg ccccgggggc ccccaaagaa 660
gagtgaggac tgctctggag aggggaagga ccagaggggc cagagcattt attcaacctc 720
cttccccgaa ccggcccccc gccagccgca cctggcgtca agaccctgcc ccagcccag 780
accctgcccc agccccaggc ccggccaccc cgtctctatg gtcagggctc ctctagacc 840
aagccccacc cagcagccga ggccaaaagg gttccccaaa gtgggagagg agtgagagat 900
cccaggagac ctcaacagga ccccacccat aggtacacac aaaaaagggg ggatcgaggc 960
cagacacggg ggctcacgcc tgtaatccca gcagtttggg aagccgaggc ggggtggaaca 1020
cttgaggtca ggggtttgag accagcctgg cttgaacctg ggaggcggag gttgcagtga 1080
gccgagattg cgccactgca ctccagcctg ggcgacagag tgagactccg tctcaaaaaa 1140
aacaaaaagc aggaggattg ggagcctgtc agccccatcc tgagaccccg tcctcatttc 1200
tgtaatgatg gatctcgctc ccactttccc ccaagaacct aataaaggct tgtgaagaaa 1260
aaaaaaaaaa aaaaaa 1276

```

<210> 7  
 <211> 220  
 5 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<220>  
 <223> forma inmadura/precursora de CD28 humano nativo

10

```

<400> 7
Met Leu Arg Leu Leu Leu Ala Leu Asn Leu Phe Pro Ser Ile Gln Val
 1 5 10 15
Thr Gly Asn Lys Ile Leu Val Lys Gln Ser Pro Met Leu Val Ala Tyr
 20 25 30
Asp Asn Ala Val Asn Leu Ser Cys Lys Tyr Ser Tyr Asn Leu Phe Ser
 35 40 45
Arg Glu Phe Arg Ala Ser Leu His Lys Gly Leu Asp Ser Ala Val Glu
 50 55 60
Val Cys Val Val Tyr Gly Asn Tyr Ser Gln Gln Leu Gln Val Tyr Ser
 65 70 75 80
Lys Thr Gly Phe Asn Cys Asp Gly Lys Leu Gly Asn Glu Ser Val Thr
 85 90 95
Phe Tyr Leu Gln Asn Leu Tyr Val Asn Gln Thr Asp Ile Tyr Phe Cys
 100 105 110
Lys Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser
 115 120 125
Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro
 130 135 140
Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly
 145 150 155 160
Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile
 165 170 175
Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met
 180 185 190
Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro
 195 200 205
Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
 210 215 220

```

15 <210> 8  
 <211> 753

<212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

<220>

5 <223> forma inmadura/precursora de CD28 humano nativo

<400> 8

```

ggaggaggagg ctggaaccct agcccatcgt caggacaaag atgctcagge tgctcttggc 60
tctcaactta ttcccttcaa ttcaagtaac aggaacaag attttgggta agcagtcgcc 120
catgcttgta gcgtacgaca atgcggtcaa ccttagctgc aagtattcct acaatctctt 180
ctcaagggag ttccggggcat cccttcacaa aggactggat agtgctgtgg aagtctgtgt 240
tgtatatggg aattactccc agcagcttca ggtttactca aaaacggggg tcaactgtga 300
tgggaaattg ggcaatgaat cagtgcatt ctacctccag aatttgtatg ttaaccaaac 360
agatatttac ttctgcaaaa ttgaagttat gtatcctcct ccttacctag acaatgagaa 420
gagcaatgga accattatcc atgtgaaagg gaaacacctt tgtccaagtc ccctatttcc 480
cggaccttct aagccctttt ggggtgctggt ggtgggtggt ggagtcctgg cttgctatag 540
cttgctagta acagtggcct ttattatctt ctgggtgagg agtaagagga gcaggctcct 600
gcacagtgac tacatgaaca tgactccccg cgcgccgggg cccaccgcga agcattacca 660
gccctatgcc ccaccacgcg acttcgcagc ctatcgctcc tgacacggac gcctatccag 720
aagccagccg gctggcagcc cccatctgct caa 753
    
```

10 <210> 9

<211> 223  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

15 <220>

<223> forma inmadura/precursora de CTLA-4 humano nativo

<400> 9

```

Met Ala Cys Leu Gly Phe Gln Arg His Lys Ala Gln Leu Asn Leu Ala
 1          5          10          15
Thr Arg Thr Trp Pro Cys Thr Leu Leu Phe Phe Leu Leu Phe Ile Pro
 20          25          30
Val Phe Cys Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala
 35          40          45
Ser Ser Arg Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly
 50          55          60
Lys Ala Thr Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln
 65          70          75          80
Val Thr Glu Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr
 85          90          95
Phe Leu Asp Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val
 100         105         110
Asn Leu Thr Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile
 115        120        125
Cys Lys Val Glu Leu Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly
 130        135        140
Asn Gly Thr Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser
 145        150        155        160
Asp Phe Leu Leu Trp Ile Leu Ala Ala Val Ser Ser Gly Leu Phe Phe
 165        170        175
Tyr Ser Phe Leu Leu Thr Ala Val Ser Leu Ser Lys Met Leu Lys Lys
 180        185        190
Arg Ser Pro Leu Thr Thr Gly Val Tyr Val Lys Met Pro Pro Thr Glu
 195        200        205
Pro Glu Cys Glu Lys Gln Phe Gln Pro Tyr Phe Ile Pro Ile Asn
 210        215        220
    
```

20

<210> 10  
 <211> 2025  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

25

<220>

<223> forma inmadura/precursora de CTLA-4 humano nativo

5 <400> 10

```

cttctgtgtg tgcacatgtg taatacatat ctgggatcaa agctatctat ataaagtcct 60
tgattctgtg tgggttcaaa cacatttcaa agcttcagga tcctgaaagg ttttgctcta 120
cttcctgaag acctgaacac cgctcccata aagccatggc ttgccttggg tttcageggc 180
acaaggctca gctgaacctg gctaccagga cctggccctg cactctcctg ttttttcttc 240
tcttcatccc tgtcttctgc aaagcaatgc acgtggccca gcctgctgtg gtactggcca 300
gcagccgagg catcgccagc tttgtgtgtg agtatgcac tccaggcaaa gccactgagg 360
tccgggtgac agtgcttcgg caggctgaca gccagggtgac tgaagtctgt gcggaacact 420
acatgatggg gaatgagttg accttcctag atgattccat ctgcacgggc acctccagtg 480
gaaatcaagt gaacctcact atccaaggac tgagggccat ggacacggga ctctacatct 540
gcaaggtgga gctcatgtac ccaccgccat actacctggg cataggcaac ggaaccaga 600
tttatgtaat tgatccagaa ccgtgccag attctgactt cctcctctgg atccttgag 660
cagttagttc ggggttgttt ttttatagct ttctcctcac agctgtttct ttgagcaaaa 720
tgctaaagaa aagaagccct cttacaacag gggctctatgt gaaaatgccc ccaacagagc 780
cagaatgtga aaagcaattt cagccttatt ttattcccat caattgagaa accattatga 840
agaagagagt ccatatttca attccaaga gctgaggcaa ttctaacttt tttgctatcc 900
agctattttt atttgtttgt gcatttgggg ggaattcatc tctctttaat ataaagttgg 960
atgcggaacc caaattacgt gtactacaat ttaaagcaaa ggagtagaaa gacagagctg 1020
ggatgtttct gtcacatcag ctccactttc agtgaaagca tcacttggga ttaatatggg 1080
gatgcagcat tatgatgtgg gtcaaggaat taagttaggg aatggcacag ccaaagaag 1140
gaaaaggcag ggagcgaggg agaagactat attgtacaca ctttatattt acgtatgaga 1200
cgtttatagc cgaaatgatc ttttcaagtt aaattttatg ctttttattt cttaacaaa 1260
tgtatgatta catcaaggct tcaaaaatac tcacatggct atgttttagc cagtgatgct 1320
aaaggttgta ttgcatatat acatatatat atatatatat atatatatat atatatatat 1380
atatatatat ttaatttga tagtattgtg catagagcca cgtatgtttt tgtgtatttg 1440
ttaatggttt gaataataaac actatatggc agtgtctttc caccttgggt cccaggggag 1500
ttttgtggag gagctcagga cactaataca ccaggtagaa cacaaggtca tttgctaact 1560
agcttggaaa ctggatgagg tcatagcagt gcttgattgc gtggaattgt gctgagttgg 1620
tgttgacatg tgctttgggg cttttacacc agttcctttc aatggtttgc aaggaagcca 1680
cagctggtgg tatctgagtt gacttgacag aacactgtct tgaagacaat ggcttactcc 1740
aggagaccca caggtatgac cttctaggaa gctccagttc gatgggcca attcttacia 1800
acatgtggtt aatgccatgg acagaagaag gcagcaggtg gcagaatggg gtgcatgaag 1860
gtttctgaaa attaacactg cttgtgtttt taactcaata ttttccatga aaatgcaaca 1920
acatgtataa tatttttaat taaataaaaa tctgtggtgg tcgttttaaa aaaaaaaaaa 1980
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa 2025

```

<210> 11

<211> 199

10 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> primera isoforma inmadura/precursora de ICOS humano nativo

15

<400> 11

ES 2 666 152 T3

Met Lys Ser Gly Leu Trp Tyr Phe Phe Leu Phe Cys Leu Arg Ile Lys  
 1 5 10 15  
 Val Leu Thr Gly Glu Ile Asn Gly Ser Ala Asn Tyr Glu Met Phe Ile  
 20 25 30  
 Phe His Asn Gly Gly Val Gln Ile Leu Cys Lys Tyr Pro Asp Ile Val  
 35 40 45  
 Gln Gln Phe Lys Met Gln Leu Leu Lys Gly Gly Gln Ile Leu Cys Asp  
 50 55 60  
 Leu Thr Lys Thr Lys Gly Ser Gly Asn Thr Val Ser Ile Lys Ser Leu  
 65 70 75 80  
 Lys Phe Cys His Ser Gln Leu Ser Asn Asn Ser Val Ser Phe Phe Leu  
 85 90 95  
 Tyr Asn Leu Asp His Ser His Ala Asn Tyr Tyr Phe Cys Asn Leu Ser  
 100 105 110  
 Ile Phe Asp Pro Pro Pro Phe Lys Val Thr Leu Thr Gly Gly Tyr Leu  
 115 120 125  
 His Ile Tyr Glu Ser Gln Leu Cys Cys Gln Leu Lys Phe Trp Leu Pro  
 130 135 140  
 Ile Gly Cys Ala Ala Phe Val Val Val Cys Ile Leu Gly Cys Ile Leu  
 145 150 155 160  
 Ile Cys Trp Leu Thr Lys Lys Lys Tyr Ser Ser Ser Val His Asp Pro  
 165 170 175  
 Asn Gly Glu Tyr Met Phe Met Arg Ala Val Asn Thr Ala Lys Lys Ser  
 180 185 190  
 Arg Leu Thr Asp Val Thr Leu  
 195

<210> 12  
 <211> 621  
 5 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

<220>  
 <223> forma inmadura/precursora de ICOS humano nativo

10 <400> 12  
 ggcccaagct tgccatgaag tcaggacttt ggtatttctt tctcttctgc ttgocgatta 60  
 aagttttaac aggagaaatc aatggttctg ccaattatga gatgtttata tttcacaacg 120  
 gaggtgtaca aattttatgc aaatattctg acattgtcca gcaattttaa atgcagttgc 180  
 tgaaggggg gcaaatactc tgcgatctca ctaagacaaa aggaagtgga aacacagtgt 240  
 ccattaagag tctgaaattc tgccattctc agttatccaa caacagtgtc tccttttttc 300  
 tatacaactt ggaccattct catgccaaact attacttctg taacctatca atttttgatc 360  
 ctcctccttt taaagtaact cttacaggag gatatttgca tatttatgaa tcacaacttt 420  
 gttgccagct gaagttctgg ttacccatag gatgtgcagc ctttgttgta gtctgcattt 480  
 tgggatgcat acttatttgt tggcttaca aaaagaagta ttcattccagt gtgcacgacc 540  
 ctaacgggtga atacatgttc atgagagctg tgaataccgc taagaaatct cgctgacag 600  
 acgtcacact ctgattctag a 621

15 <210> 13  
 <211> 1245  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

20 <220>  
 <223> B7-H7 humano

<400> 13  
 atgaaggcac agacagcact gtctttcttc ctctattctca taacatctct gagtggatct 60  
 caaggcatat tccctttggc tttcttcatt tatgttccta tgaatgaaca aatcgtcatt 120

ES 2 666 152 T3

ggaagacttg atgaagatat aattctccct tcttcatttg agaggggatc cgaagtcgta 180  
 atacactgga agtatcaaga tagctataag gttcacagtt actacaaagg cagtgaccat 240  
 ttggaaagcc aagatcccag atatacaaac aggacatccc ttttctataa tgagattcaa 300  
 aatgggaatg cgtcgtctatt tttcagaaga gtaagccttc tggacgaagg aatttacacc 360  
 tgctatgtag gaacagcaat tcaagtgatt acaaaacaaag tggtgctaaa ggtgggagtt 420  
 tttctcacac ccgtgatgaa gtatgaaaag aggaacacaa acagcttctt aatatgcagc 480  
 gtgттаagtг tttatcctcg tccaattatc acgtggaaaa tggacaacac acctatctct 540  
 gaaaacaaca tggaaagaaac agggctctttg gattcttttt ctattaacag cccactgaat 600  
 attacaggat caaattcatc ttatgaatgt acaattgaaa attcactgct gaagcaaaca 660  
 tggacagggc gctggacgat gaaagatggc cttcataaaa tgcaaagtga acacgtttca 720  
 ctctcatgtc aacctgtaaa tgattatttt tcaccaaacc aagacttcaa agttacttgg 780  
 tccagaatga aaagtgggac tttctctgtc ctggcttact atctgagctc ctcacaaaat 840  
 acaattatca atgaatcccг attctcatgg aacaaagagc tgataaacca gagtgacttc 900  
 tctatgaatt tgatggatct taatctttca gacagtgggg aatatttatg caatatttct 960  
 tcggatgaat atacctttact taccatccac acagtgcagt tagaacggag ccaagaaaca 1020  
 gcttcccata acaaaggctt atggattttg gtgcctctg cgattttggc agcttttctg 1080  
 ctgatttggg gcgtaaaatg ttgcagagcc cagctagaag ccaggaggag cagacaccct 1140  
 gctgatggag cccaacaaga aagatgttgt gtccctcctg gtgagcgtg tcccagtgca 1200  
 cccgataatg gcgaagaaaa tgtgaggtct gtttctggga aagtg 1245

<210> 14

<211> 1242

5 <212> ADN

<213> *Pan troglodytes* (chimpancé común)

<220>

<223> B7H7 de PANTRA

10

<400> 14

atgaaggcac agacagcact gtctttcttc ctcatctca taacatctct gagtggatct 60  
 caagccatat tccctatggc tttctccact tatgttctctg tgaatgaaca aatcgtcatt 120  
 ggaagacttg atgaagatat aattctccct tcttcatttg agaggggatc ggaagtcgta 180  
 atacactgga agtatcaaga tagctataag gttcacagtt actacaaagg cagtgaccat 240  
 ttggaaagcc aagatcccag atatacaaac aggacatccc ttttctataa tgagattcaa 300  
 gggaaatgcgt cgtatatttc cccaagagta agccttctgg acgaaggaat ttacacctgc 360  
 tatgtaggaa cagcaattca agtgattaca aacaaagtgg tgctaaaggt gggagttttt 420  
 ctcacacccг tgatgaagta tgaaaagagg aacacaaaca gcttcttaat atgcagcgtg 480  
 ttaagtgttt atcctcgtcc aattatcacg tggaaaatgg acaacacacc tatctctgaa 540  
 aacaacatgg aagaaacagg gtctttggat tctttttcta ttaacagccc actgaatatt 600  
 acagggcgct ggacaatgaa agatggcctt cataaaatgc aaagtgaaca cgtttcactc 720  
 tcatgtcaac ctgtaaatga ttatttttca ccaaccaag acttcaaagt tacttgggtcc 780  
 agaatgaaaa gtgggacttt ctctatcctg gcttactatc tgagctcctc acaaaataca 840  
 attatcaatg aatcccгatt ctcatggaac aaagagctga taaaccagag tgacttctct 900  
 atgaatttga tggatcttaa tctttcagac agtggggaat atttatgcaa tatttcttca 960  
 gatgaatata ctttacttac catccacaca gtgcatgtag aaccaagcca agaaacagct 1020  
 tcccataaca aaggcttatg gatthttgggtg ccctctgtga ttttggcagc ttttctgctg 1080  
 atttggacag taaaacgttg cagagcccag ccagaagcca ggaggagcag acaccctgct 1140  
 gatggagccc aacaagaaag atattgtgtc cctcctgggtg agcactgtcc cagtgcaccc 1200  
 gataatggcg aagaaaatgt gaggtctggt tctgggaaag tg 1242

<210> 15

15 <211> 1164

<212> ADN

<213> *Macaca mulatta* (macaco de la India)

<220>

20 <223> B7-H7 de MACMU

<400> 15

ES 2 666 152 T3

```

atgaaggcac agacgtcttt ctctctcatt ctcatatcat ctctgagtgg atctcaaggc 60
atattccttt cagctttctt cacttacggt cctatgaatg aacaaatcat cattggaaga 120
cttgggtgaag atataattct cccttcttca tttgagaggg gatccgaagt tgtaatacac 180
tggaagtatc aagacagcta caatagctac aatgttcaca gttactaca aggcagtggc 240
cgtttggaag gccaaagatac cagatatgca aacaggacat cccttttcta taatgagatt 300
caaaatggga atgcgtctct atttttcaga agattaagcc ttctggatga aggaatttat 360
acctgctatg taggaacagc aattcaagcg attacaaca aagtgggtgct aaaggtggga 420
gtttttctca cacccatgat gaagtatgaa aagaggaaca caaacagctt cttaatatgc 480
aacgtgttaa gtgtttatcc tcgtccaatt atcacgtgga aaatggacaa cacacctatc 540
tctgaaaaca atatgcaaga aacagggctt ttgggtcctt tttcgattaa cagcacgctg 600
aatattacag gatcaaatc atcttatgaa tgtacaattg aaaattcact tctgaagcaa 660
acatggacag ggcgctggac aatgaaagt ggcttccata aaatgcaaag tgaacatggt 720
tcactctcat gtgaacttgt aatgattat tttcaccaa accaagactt caaagttact 780
tggtccagaa tggaaagtgg gatttcctct atcctggctt actatctgag ctctcaca 840
aatacaactt tctatgaatc ccgattctca tggaaacaa agctgaaaaa ccagagtgc 900
ttctctatga atttgacgga tcttagtctt tcagacagtg gggaaatatt gtgcaatatt 960
tcttcggatg aatatacttt actcaccata cacacgggtc acgtagaacc aagccaagaa 1020
acagcttccg ataacaaagg cttatggatt ttgggtggcca gtctgatttt ggtgctctgt 1080
ctgatttggc tgatttggaa agtaaaatgt tccacagccc aaatagaagc caggaggagc 1140
agataccctg ctgatggagc ccaa 1164

```

<210> 16  
5 <211> 702  
<212> ADN  
<213> Bovino

<220>  
10 <223> B7-H7 bovino

```

<400> 16
atgaatgagc aaatcgtcac tggaaagacta ggtgaagatg tcattctccc ttgctcattt 60
gagagtggac ccaatgtcgt aattcactgg aagaaccaag ataccaatgt ttactcatac 120
tacagagaca gcgaccagtt ggaaaagcaa gatcccagat atgtaaacag gatatccctc 180
ttccatggtg agattcacao tgggaatgcc tcctgtctt tcagaagatt aaccctcag 240
gatgaaggaa tctacgtatg ctatgtggga acatcacttg gaaaaatcac aaagaaaata 300
gtcctaaaag tgggagcttt tgtcacacct gtgatgaagt atgaaaagaa taccaccaac 360
agcttcttaa tatgcaatgt gttaagtgtt tttccttacc caattatcac atggaaagtg 420
gataataata catctatctc tgaaaacaat gggaaagaag ttggatcttt gggctccttt 480
catataaaca gcagagtaaa tattacagga tcaaattcat catatcagtg tgaaattgaa 540
aaccactgc tgaagcaaac atggacagga agatggacaa ggaaagataa agaaaggaat 600
acaaaaagga aggaaatgca tttgcagagt tcactagaag taaagcaaat tttttctgta 660
aatctccata cagtggactt acaatattat ttcagtataa aa 702

```

15 <210> 17  
<211> 414  
<212> PRT  
<213> *Pan troglodytes* (chimpancé común)

20 <220>  
<223> B7-H7 de PANTRA

<400> 17

ES 2 666 152 T3

Met Lys Ala Gln Thr Ala Leu Ser Phe Phe Leu Ile Leu Ile Thr Ser  
 1 5 10 15  
 Leu Ser Gly Ser Gln Ala Ile Phe Pro Met Ala Phe Ser Thr Tyr Val  
 20 25 30  
 Pro Val Asn Glu Gln Ile Val Ile Gly Arg Leu Asp Glu Asp Ile Ile  
 35 40 45  
 Leu Pro Ser Ser Phe Glu Arg Gly Ser Glu Val Val Ile His Trp Lys  
 50 55 60  
 Tyr Gln Asp Ser Tyr Lys Val His Ser Tyr Tyr Lys Gly Ser Asp His  
 65 70 75 80  
 Leu Glu Ser Gln Asp Pro Arg Tyr Thr Asn Arg Thr Ser Leu Phe Tyr  
 85 90 95  
 Asn Glu Ile Gln Gly Asn Ala Ser Leu Phe Ser Pro Arg Val Ser Leu  
 100 105 110  
 Leu Asp Glu Gly Ile Tyr Thr Cys Tyr Val Gly Thr Ala Ile Gln Val  
 115 120 125  
 Ile Thr Asn Lys Val Val Leu Lys Val Gly Val Phe Leu Thr Pro Val  
 130 135 140  
 Met Lys Tyr Glu Lys Arg Asn Thr Asn Ser Phe Leu Ile Cys Ser Val  
 145 150 155 160  
 Leu Ser Val Tyr Pro Arg Pro Ile Ile Thr Trp Lys Met Asp Asn Thr  
 165 170 175  
 Pro Ile Ser Glu Asn Asn Met Glu Glu Thr Gly Ser Leu Asp Ser Phe  
 180 185 190  
 Ser Ile Asn Ser Pro Leu Asn Ile Thr Gly Ser Asn Ser Ser Tyr Glu  
 195 200 205  
 Cys Thr Ile Glu Asn Ser Leu Leu Lys Gln Thr Trp Thr Gly Arg Trp  
 210 215 220  
 Thr Met Lys Asp Gly Leu His Lys Met Gln Ser Glu His Val Ser Leu  
 225 230 235 240  
 Ser Cys Gln Pro Val Asn Asp Tyr Phe Ser Pro Asn Gln Asp Phe Lys  
 245 250 255  
 Val Thr Trp Ser Arg Met Lys Ser Gly Thr Phe Ser Ile Leu Ala Tyr  
 260 265 270  
 Tyr Leu Ser Ser Ser Gln Asn Thr Ile Ile Asn Glu Ser Arg Phe Ser  
 275 280 285  
 Trp Asn Lys Glu Leu Ile Asn Gln Ser Asp Phe Ser Met Asn Leu Met  
 290 295 300  
 Asp Leu Asn Leu Ser Asp Ser Gly Glu Tyr Leu Cys Asn Ile Ser Ser  
 305 310 315 320  
 Asp Glu Tyr Thr Leu Leu Thr Ile His Thr Val His Val Glu Pro Ser  
 325 330 335  
 Gln Glu Thr Ala Ser His Asn Lys Gly Leu Trp Ile Leu Val Pro Ser  
 340 345 350  
 Val Ile Leu Ala Ala Phe Leu Leu Ile Trp Thr Val Lys Arg Cys Arg  
 355 360 365  
 Ala Gln Pro Glu Ala Arg Arg Ser Arg His Pro Ala Asp Gly Ala Gln  
 370 375 380  
 Gln Glu Arg Tyr Cys Val Pro Pro Gly Glu His Cys Pro Ser Ala Pro  
 385 390 395 400  
 Asp Asn Gly Glu Glu Asn Val Arg Ser Val Ser Gly Lys Val  
 405 410

<210> 18

5 <211> 388

<212> PRT

<213> *Macaca mulatta* (macaco de la India)

<220>

10 <223> B7-H7 de MACMU

<400> 18

ES 2 666 152 T3

Met Lys Ala Gln Thr Ser Phe Phe Leu Ile Leu Ile Ser Ser Leu Ser  
 1 5 10 15  
 Gly Ser Gln Gly Ile Phe Leu Ser Ala Phe Phe Thr Tyr Val Pro Met  
 20 25 30  
 Asn Glu Gln Ile Ile Ile Gly Arg Leu Gly Glu Asp Ile Ile Leu Pro  
 35 40 45  
 Ser Ser Phe Glu Arg Gly Ser Glu Val Val Ile His Trp Lys Tyr Gln  
 50 55 60  
 Asp Ser Tyr Asn Ser Tyr Asn Val His Ser Tyr Tyr Lys Gly Ser Gly  
 65 70 75 80  
 Arg Leu Glu Ser Gln Asp Thr Arg Tyr Ala Asn Arg Thr Ser Leu Phe  
 85 90 95  
 Tyr Asn Glu Ile Gln Asn Gly Asn Ala Ser Leu Phe Phe Arg Arg Leu  
 100 105 110  
 Ser Leu Leu Asp Glu Gly Ile Tyr Thr Cys Tyr Val Gly Thr Ala Ile  
 115 120 125  
 Gln Ala Ile Thr Asn Lys Val Val Leu Lys Val Gly Val Phe Leu Thr  
 130 135 140  
 Pro Met Met Lys Tyr Glu Lys Arg Asn Thr Asn Ser Phe Leu Ile Cys  
 145 150 155 160  
 Asn Val Leu Ser Val Tyr Pro Arg Pro Ile Ile Thr Trp Lys Met Asp  
 165 170 175  
 Asn Thr Pro Ile Ser Glu Asn Asn Met Gln Glu Thr Gly Ser Leu Gly  
 180 185 190  
 Pro Phe Ser Ile Asn Ser Thr Leu Asn Ile Thr Gly Ser Asn Ser Ser  
 195 200 205  
 Tyr Glu Cys Thr Ile Glu Asn Ser Leu Leu Lys Gln Thr Trp Thr Gly  
 210 215 220  
 Arg Trp Thr Met Lys Asp Gly Leu His Lys Met Gln Ser Glu His Val  
 225 230 235 240  
 Ser Leu Ser Cys Glu Leu Val Asn Asp Tyr Phe Ser Pro Asn Gln Asp  
 245 250 255  
 Phe Lys Val Thr Trp Ser Arg Met Glu Ser Gly Ile Ser Ser Ile Leu  
 260 265 270  
 Ala Tyr Tyr Leu Ser Ser Ser Gln Asn Thr Thr Phe Tyr Glu Ser Arg  
 275 280 285  
 Phe Ser Trp Asn Lys Glu Leu Lys Asn Gln Ser Asp Phe Ser Met Asn  
 290 295 300  
 Leu Thr Asp Leu Ser Leu Ser Asp Ser Gly Glu Tyr Leu Cys Asn Ile  
 305 310 315 320  
 Ser Ser Asp Glu Tyr Thr Leu Leu Thr Ile His Thr Val His Val Glu  
 325 330 335  
 Pro Ser Gln Glu Thr Ala Ser Asp Asn Lys Gly Leu Trp Ile Leu Val  
 340 345 350  
 Ala Ser Leu Ile Leu Val Leu Cys Leu Ile Trp Leu Ile Trp Lys Val  
 355 360 365  
 Lys Cys Ser Thr Ala Gln Ile Glu Ala Arg Arg Ser Arg Tyr Pro Ala  
 370 375 380  
 Asp Gly Ala Gln  
 385

5 <210> 19  
 <211> 234  
 <212> PRT  
 <213> Bovino

10 <220>  
 <223> B7-H7 bovino (incompleto)

<400> 19

ES 2 666 152 T3

Met Asn Glu Gln Ile Val Thr Gly Arg Leu Gly Glu Asp Val Ile Leu  
 1 5 10 15  
 Pro Cys Ser Phe Glu Ser Gly Pro Asn Val Val Ile His Trp Lys Asn  
 20 25 30  
 Gln Asp Thr Asn Val Tyr Ser Tyr Tyr Arg Asp Ser Asp Gln Leu Glu  
 35 40 45  
 Lys Gln Asp Pro Arg Tyr Val Asn Arg Ile Ser Leu Phe His Gly Glu  
 50 55 60  
 Ile His Asn Gly Asn Ala Ser Leu Ser Phe Arg Arg Leu Thr Leu Gln  
 65 70 75 80  
 Asp Glu Gly Ile Tyr Val Cys Tyr Val Gly Thr Ser Leu Gly Lys Ile  
 85 90 95  
 Thr Lys Lys Ile Val Leu Lys Val Gly Ala Phe Val Thr Pro Val Met  
 100 105 110  
 Lys Tyr Glu Lys Asn Thr Thr Asn Ser Phe Leu Ile Cys Asn Val Leu  
 115 120 125  
 Ser Val Phe Pro Tyr Pro Ile Ile Thr Trp Lys Val Asp Asn Asn Thr  
 130 135 140  
 Ser Ile Ser Glu Asn Asn Gly Lys Glu Val Gly Ser Leu Gly Pro Phe  
 145 150 155 160  
 His Ile Asn Ser Arg Val Asn Ile Thr Gly Ser Asn Ser Ser Tyr Gln  
 165 170 175  
 Cys Glu Ile Glu Asn Pro Leu Leu Lys Gln Thr Trp Thr Gly Arg Trp  
 180 185 190  
 Thr Arg Lys Asp Lys Glu Arg Asn Thr Lys Arg Lys Glu Met His Leu  
 195 200 205  
 Gln Ser Ser Leu Glu Val Lys Gln Ile Phe Ser Val Asn Leu His Thr  
 210 215 220  
 Val Asp Leu Gln Tyr Tyr Phe Ser Ile Lys  
 225 230

<210> 20

5 <211> 282

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

10 <223> H7CR humano

<400> 20

ES 2 666 152 T3

Met Gly Ser Pro Gly Met Val Leu Gly Leu Leu Val Gln Ile Trp Ala  
 1 5 10 15  
 Leu Gln Glu Ala Ser Ser Leu Ser Val Gln Gln Gly Pro Asn Leu Leu  
 20 25 30  
 Gln Val Arg Gln Gly Ser Gln Ala Thr Leu Val Cys Gln Val Asp Gln  
 35 40 45  
 Ala Thr Ala Trp Glu Arg Leu Arg Val Lys Trp Thr Lys Asp Gly Ala  
 50 55 60  
 Ile Leu Cys Gln Pro Tyr Ile Thr Asn Gly Ser Leu Ser Leu Gly Val  
 65 70 75 80  
 Cys Gly Pro Gln Gly Arg Leu Ser Trp Gln Ala Pro Ser His Leu Thr  
 85 90 95  
 Leu Gln Leu Asp Pro Val Ser Leu Asn His Ser Gly Ala Tyr Val Cys  
 100 105 110  
 Trp Ala Ala Val Glu Ile Pro Glu Leu Glu Glu Ala Glu Gly Asn Ile  
 115 120 125  
 Thr Arg Leu Phe Val Asp Pro Asp Asp Pro Thr Gln Asn Arg Asn Arg  
 130 135 140  
 Ile Ala Ser Phe Pro Gly Phe Leu Phe Val Leu Leu Gly Val Gly Ser  
 145 150 155 160  
 Met Gly Val Ala Ala Ile Val Trp Gly Ala Trp Phe Trp Gly Arg Arg  
 165 170 175  
 Ser Cys Gln Gln Arg Asp Ser Gly Asn Ser Pro Gly Asn Ala Phe Tyr  
 180 185 190  
 Ser Asn Val Leu Tyr Arg Pro Arg Gly Pro Pro Lys Lys Ser Glu Asp  
 195 200 205  
 Cys Ser Gly Glu Gly Lys Asp Gln Arg Gly Gln Ser Ile Tyr Ser Thr  
 210 215 220  
 Ser Phe Pro Gln Pro Ala Pro Arg Gln Pro His Leu Ala Ser Arg Pro  
 225 230 235 240  
 Cys Pro Ser Pro Arg Pro Cys Pro Ser Pro Arg Pro Gly His Pro Val  
 245 250 255  
 Ser Met Val Arg Val Ser Pro Arg Pro Ser Pro Thr Gln Gln Pro Arg  
 260 265 270  
 Pro Lys Gly Phe Pro Lys Val Gly Glu Glu  
 275 280

<210> 21

<211> 282

5 <212> PRT

<213> *Pan troglodytes* (chimpancé común)

<220>

<223> H7CR de *Pan troglodytes*

10

<400> 21

Met Gly Ser Pro Gly Met Val Leu Gly Leu Leu Val Gln Ile Trp Ala

ES 2 666 152 T3

1				5					10					15		
Leu	Gln	Glu	Ala	Ser	Ser	Leu	Ser	Val	Gln	Gln	Gly	Pro	Asn	Leu	Leu	
			20					25					30			
Gln	Val	Arg	Gln	Gly	Ser	Gln	Ala	Thr	Leu	Val	Cys	Gln	Val	Asp	Gln	
		35					40					45				
Ala	Pro	Ala	Trp	Glu	Arg	Leu	Arg	Val	Lys	Trp	Thr	Lys	Asp	Gly	Ala	
		50				55					60					
Ile	Leu	Cys	Gln	Pro	Tyr	Ile	Thr	Asn	Gly	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly	Val	
65					70					75					80	
Cys	Gly	Pro	Gln	Gly	Arg	Leu	Ser	Trp	Gln	Ala	Pro	Ser	His	Leu	Thr	
				85					90					95		
Leu	Gln	Leu	Asp	Pro	Val	Asn	Leu	Asn	His	Ser	Gly	Ala	Tyr	Val	Cys	
			100					105						110		
Trp	Ala	Ala	Val	Glu	Ile	Pro	Glu	Leu	Glu	Glu	Ala	Glu	Ser	Asn	Ile	
		115					120					125				
Thr	Arg	Leu	Phe	Val	Asp	Pro	Asp	Asp	Pro	Thr	Gln	Asn	Arg	Asn	Arg	
		130				135					140					
Ile	Thr	Ser	Phe	Pro	Gly	Phe	Leu	Phe	Val	Leu	Leu	Gly	Val	Gly	Ser	
145					150					155					160	
Gly	Ala	Val	Ala	Ala	Ile	Val	Leu	Gly	Ala	Trp	Phe	Trp	Gly	Arg	Arg	
			165						170					175		
Ser	Cys	Gln	Gln	Arg	Asp	Ser	Gly	Asn	Ser	Pro	Gly	Asn	Ala	Phe	Tyr	
			180					185					190			
Ser	Asn	Val	Leu	Tyr	Arg	Pro	Arg	Gly	Ala	Pro	Lys	Lys	Ser	Glu	Asp	
		195					200					205				
Cys	Ser	Gly	Glu	Gly	Lys	Asp	Gln	Arg	Gly	Gln	Ser	Ile	Tyr	Ser	Thr	
	210					215					220					
Ser	Phe	Pro	Gln	Pro	Ala	Thr	Arg	Gln	Pro	His	Leu	Ala	Pro	Arg	Pro	
225					230					235					240	
Cys	Pro	Ser	Pro	Arg	Pro	Cys	Pro	Ser	Pro	Arg	Pro	Gly	His	Pro	Val	
				245					250					255		
Ser	Met	Val	Arg	Val	Ser	Pro	Arg	Pro	Ser	Pro	Thr	Gln	Gln	Pro	Arg	
		260						265					270			
Pro	Lys	Gly	Phe	Pro	Lys	Val	Gly	Glu	Glu							
		275					280									

<210> 22  
 <211> 292  
 5 <212> PRT  
 <213> *Bos taurus* (bovino)

<220>  
 <223> H7CR bovino

10 <400> 22

ES 2 666 152 T3

Met Gly Ser Pro Gly Thr Val Leu Val Leu Leu Val Gln Phe Trp Val  
 1 5 10 15  
 Leu Gln Gly Val Thr Gly Leu Thr Val Gln Gln Ala Pro Lys Leu Leu  
 20 25 30  
 Gln Val Arg Gln Asp Ser Gln Val Thr Leu Ala Cys Gln Val Met His  
 35 40 45  
 Ala Gln Ala Trp Glu Trp Leu Arg Val Glu Trp Ile Lys Asp Ala Asp  
 50 55 60  
 Ile Phe Cys Gln Thr His Ile Ile Asn Gly Ser Leu Ser Lys Asp Val  
 65 70 75 80  
 Cys Gly Pro Gln Gly Trp Leu Ser Trp Gln Pro Pro Gly Asn Leu Thr  
 85 90 95  
 Leu Gln Leu Asn His Val Ser Leu Asn Asp Ser Gly Leu Tyr Val Cys  
 100 105 110  
 Gly Ala Thr Val Glu Ile Pro Val Trp Glu Glu Ala Gln Gly Asn Gly  
 115 120 125  
 Thr Gln Leu Leu Val Glu Arg Gly Val Trp Leu Gln Asp His Ser Phe  
 130 135 140  
 Ser Gly Leu Tyr Phe Ala Pro Leu Val Thr Gly Ala Val Ala Val Ala  
 145 150 155 160  
 Val Phe Ala Leu Gly Ala Gly Ile Trp Gly Arg Arg Arg Cys Arg Asn  
 165 170 175  
 Gly Asp Ala Gly Ser Pro Ile Tyr Ser Asn Val Leu Tyr Arg Pro Arg  
 180 185 190  
 Arg Ala Ala Arg Lys Lys Ala Trp Pro Val Glu Arg Lys Val Leu Asp  
 195 200 205  
 Ser Glu Asp Gln Lys Gly Gln Ser Phe Tyr Ser Ile Ser Phe Pro Gln  
 210 215 220  
 Arg Pro Lys Ser His Met Ala Pro Lys Phe Cys Pro Ser Pro Arg Pro  
 225 230 235 240  
 Ile His Pro Ile Ser Ala Val Arg Ile Ser Pro Gly Pro Gly Ser Ser  
 245 250 255  
 Gly Gln Pro Arg Ser Arg Gly Phe Leu Glu Val Gly Arg Glu Ile Arg  
 260 265 270  
 Thr Ala Gly Glu Pro Glu Lys Thr Tyr Pro Gln Arg Leu Tyr Lys Asp  
 275 280 285  
 Val Thr Tyr Ser  
 290

<210> 23  
 5 <211> 849  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

<220>  
 10 <223> H7CR humano

<400> 23

ES 2 666 152 T3

```

atgggggtccc  cgggcatggt  gctgggcctc  ctggtgcaga  tctgggccct  gcaagaagcc  60
tcaagcctga  gcgtgcagca  ggggcccac  ttgctgcagg  tgaggcaggg  cagtcaggcg  120
accctggtct  gccaggtgga  ccaggccaca  gcctgggaac  ggctccgtgt  taagtggaca  180
aaggatgggg  ccatcctgtg  tcaaccgtac  atcaccaacg  gcagcctcag  cctgggggtc  240
tgcgggcccc  agggacggct  ctcttgagc  gcaccagcc  atctaccct  gcagctggac  300
cctgtgagcc  tcaaccacag  cggggcgtac  gtgtgctggg  cggccgtaga  gattcctgag  360
ttggaggagg  ctgagggcaa  cataacaagg  ctctttgtgg  acccagatga  cccacacag  420
aacagaaaacc  ggatcgcaag  ctcccagga  ttcctcttcg  tgctgctggg  ggtgggaagc  480
atgggtgtgg  ctgcatcgt  gtggggtgcc  tggttctggg  gccgccgag  ctgccagcaa  540
agggactcag  gtaacagccc  aggaaatgca  ttctacagca  acgtcctata  cgggccccgg  600
gggcccccaa  agaagagtga  ggactgctct  ggagagggga  aggaccagag  gggccagagc  660
atattattcaa  cctccttccc  gcaaccggcc  cccgccagc  cgcacctggc  gtcaagacc  720
tgccccagcc  cgagaccctg  ccccagcccc  aggccggcc  acccgtctc  tatggtcagg  780
gtctctccta  gaccaagccc  caccagcag  ccgaggccaa  aagggttccc  caaagtggga  840
gaggagtga  849

```

<210> 24

<211> 849

5 <212> ADN

<213> *Pan troglodytes* (chimpancé común)

<220>

<223> ADNc de H7CR de chimpancé

10

<400> 24

```

atgggggtccc  cgggcatggt  gctgggcctc  ctggtgcaga  tctgggccct  gcaagaagcc  60
tcaagcctga  gcgtgcagca  ggggcccac  ttgctgcagg  tgaggcaggg  cagtcaggcg  120
accctggtct  gccaggtgga  ccaggccaca  gcctgggaac  ggctccgtgt  taagtggaca  180
aaggatgggg  ccatcctgtg  tcaaccgtac  atcaccaacg  gcagcctcag  cctgggggtc  240
tgcgggcccc  agggacggct  ctcttgagc  gcaccagcc  atctaccct  gcagctggac  300
cctgtgaacc  tcaaccacag  cggggcgtac  gtgtgctggg  cggccgtaga  gattcctgag  360
ttggaggagg  ctgagagcaa  cataacaagg  ctctttgtgg  acccagatga  cccacacag  420
aacagaaaacc  ggatcacaag  ctcccagga  ttcctcttcg  tgctgctggg  ggtgggaagc  480
ggggctgtgg  ccgcatcgt  gttgggtgcc  tggttctggg  gccgccgag  ctgccagcaa  540
agggactcag  gtaacagccc  aggaaatgca  ttctacagca  acgtcctata  cgggccccgg  600
gggcccccaa  agaagagtga  ggactgctct  ggagagggga  aggaccagag  gggccagagc  660
atattattcaa  cctccttccc  gcaaccggcc  cccgccagc  cgcacctggc  gccaagacc  720
tgccccagcc  cgagaccctg  ccccagcccc  aggccggcc  acccgtctc  tatggtcagg  780
gtctctccta  gaccaagccc  caccagcag  ccgaggccaa  aagggttccc  caaagtggga  840
gaggagttaa  849

```

15 <210> 25

<211> 879

<212> ADN

<213> *Bos taurus* (bovino)

20 <220>

<223> ADNc de H7CR bovino

<400> 25

ES 2 666 152 T3

```

atgggggtccc cgggcacagt gctggtcctc ctgggtgcagt tctgggtcct acaaggagtc 60
acaggcctga ctgtgcagca ggcaccgaag ttgctgcagg tgagacagga cagccagggtg 120
actttggcct gccagggtgat gcacgcccag gcctgggagt ggctccgtgt cgagtggatc 180
aaggatgctg acatcttttg ccagacacac atcatcaatg gcagtctgag caaggatgtc 240
tgtgggcctc agggatggct atcctggcag ccgcctggca acctcaccct gcagctgaac 300
cacgtgagcc tcaatgacag tggactctat gtgtgtgggg caaccgtgga gatccctggt 360
tgggaggagg cccagggcaa cgggacgcag ctccctgggtg agagaggtgt ctggctgcag 420
gaccacagct tctcaggcct ctacttcgcg ccgctgggtga cgggggccgt ggccgttgcc 480
gttttcgctc tgggcgctgg gatctggggc cgccgccgct gccggaacgg ggatgcaggc 540
agtccaatct acagcaacgt cctataccgg ccccggagag ccgcaaggaa gaaggcatgg 600
cctgtggaaa ggaaggtgct ggacagtgag gatcagaagg gccaaagctt ctactcgatc 660
tctttcccc agcgcctcaa gtcgcatatg gctcccaaat tttgccccag tcccagacc 720
attcacccca tctctgcagt cagaatctct cctggcccag gctcctctgg gcagccaagg 780
tcaagagggg tccttgaagt gggaagagaa atcagaaccg caggagagcc agagaagacc 840
tacccccagc gactatataa agatgtgact tattcctag 879

```

<210> 26

<211> 32

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Residuos de ácido 168 a 199 de una segunda isoforma de ICOS humano nativo

10

<400> 26

```

Lys Tyr Ser Ser Ser Val His Asp Pro Asn Gly Glu Tyr Met Phe Met
 1           5           10           15
Arg Ala Val Asn Thr Ala Lys Lys Ser Arg Leu Thr Asp Val Thr Leu
          20           25           30

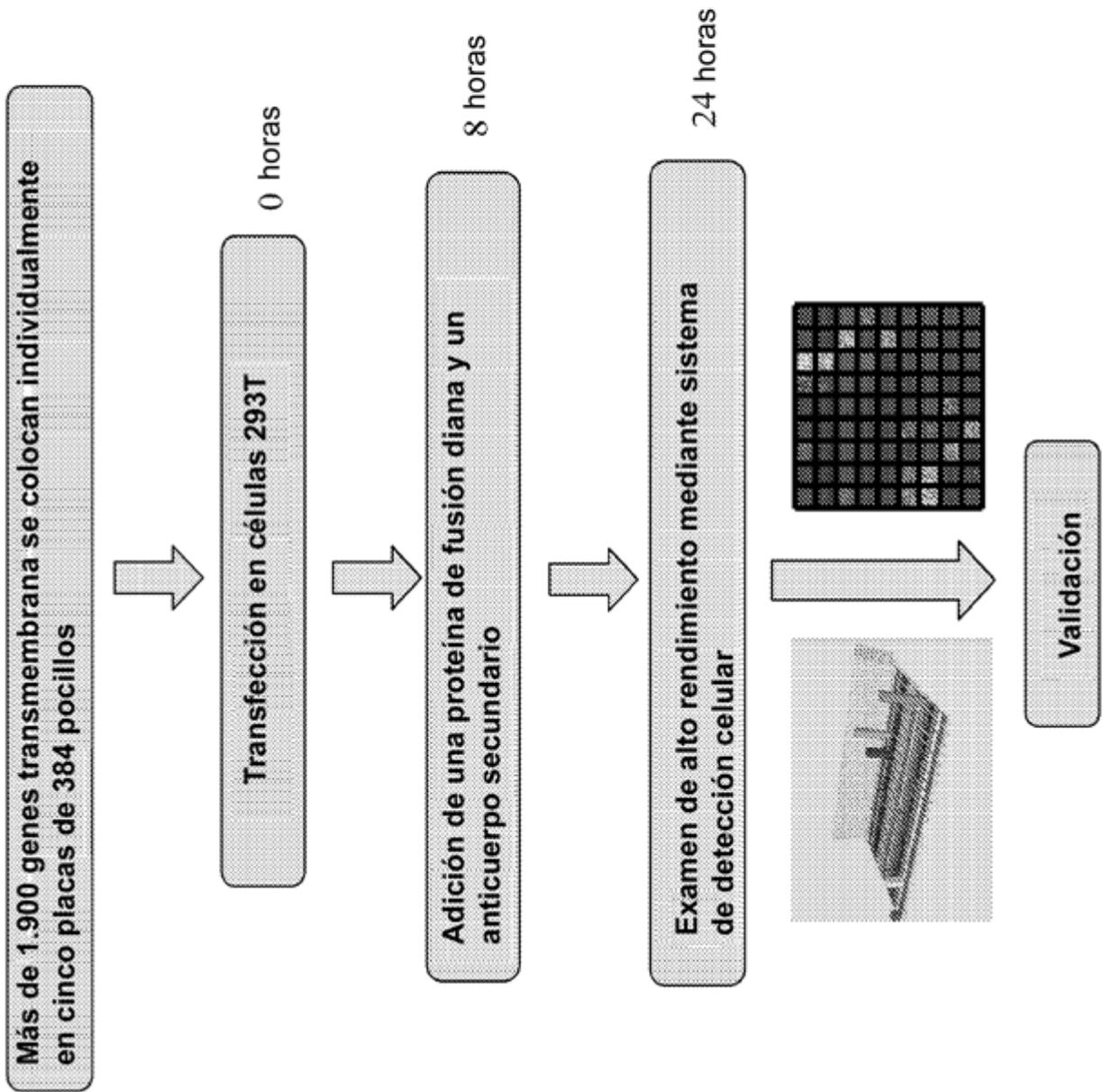
```

**REIVINDICACIONES**

1. Composición farmacéutica que comprende:
  - 5 (a) un anticuerpo que se une específicamente a B7-H7CR definido por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 en una cantidad eficaz para modular la interacción entre B7-H7 y B7-H7CR, en la que la unión del anticuerpo a B7-H7CR agoniza la interacción entre B7-H7 definido por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 y B7-H7CR, y potencia la proliferación de linfocitos T; y
  - 10 (b) un portador farmacéuticamente aceptable.
2. Composición farmacéutica que comprende:
  - 15 (a) un anticuerpo que se une específicamente a B7-H7CR definido por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 en una cantidad eficaz para modular la interacción entre B7-H7 y B7-H7CR, en la que la unión del anticuerpo a B7-H7CR antagoniza la interacción entre B7-H7 definido por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 y B7-H7CR, e inhibe la proliferación de linfocitos T; y
  - 20 (b) un portador farmacéuticamente aceptable.
3. Composición farmacéutica según la reivindicación 1, para su uso en el tratamiento de cáncer o una enfermedad infecciosa.
4. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 3, en la que se ponen en contacto células inmunitarias de un sujeto que expresan o se inducen para expresar B7-H7CR con dicha composición farmacéutica.
5. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 3, en la que dicho uso comprende poner en contacto dichas células inmunitarias del sujeto con dicha composición farmacéutica *in vitro*.
6. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 3, en la que dicho uso comprende poner en contacto dichas células inmunitarias con dicha composición farmacéutica administrando dicha composición a un sujeto.
7. Composición farmacéutica para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 3-6, en la que dicha composición farmacéutica trata un cáncer, y dicho cáncer es leucemia aguda, leucemia linfocítica aguda, leucemia mielocítica aguda, leucemia crónica, linfoma, mieloma múltiple, macroglobulinemia de Waldenstrom, enfermedad de las cadenas pesadas, sarcoma de tejido óseo y conjuntivo, un tumor cerebral, cáncer de mama, cáncer suprarrenal, cáncer de tiroides, cáncer pancreático, cáncer hipofisario, cáncer ocular, cáncer vaginal, carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma, melanoma, cáncer vulvar, cáncer de cuello uterino, cáncer uterino, cáncer de ovarios, cáncer esofágico, sarcoma, cáncer de estómago, cáncer de colon, cáncer rectal, cáncer de hígado, cáncer de vesícula biliar, cáncer de pulmón, cáncer testicular, cáncer de próstata, cáncer de pene, cáncer bucal, cáncer basal, cáncer de glándulas salivales, cáncer de faringe, cáncer de piel, cáncer de riñón, tumor de Wilms, cáncer de vejiga, mixosarcoma, sarcoma osteogénico, endoteliosarcoma, linfangioendoteliosarcoma, mesotelioma, sinovioma, hemangioblastoma, carcinoma epitelial, cistoadenocarcinoma, carcinoma broncogénico, carcinoma de las glándulas sudoríparas, carcinoma de las glándulas sebáceas, carcinoma papilar o adenocarcinoma papilar.
8. Composición farmacéutica para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 3-6, en la que dicha composición farmacéutica trata una enfermedad infecciosa, y dicha enfermedad infecciosa es:
  - 55 (A) una enfermedad viral provocada por: hepatitis tipo A, hepatitis tipo B, hepatitis tipo C, gripe, varicela, adenovirus, herpes simple tipo I (VHS-I), herpes simple tipo II (VHS-II), peste bovina, rinovirus, virus ECHO, rotavirus, virus respiratorio sincitial, virus del papiloma, papovavirus, citomegalovirus, equinovirus, arbovirus, hantavirus, virus de Coxsackie, virus de las paperas, virus del sarampión, virus de la rubéola, virus de la poliomielitis, viruela, virus de Epstein-Barr, virus de la inmunodeficiencia humana tipo I (VIH-I) o virus de la inmunodeficiencia humana tipo II (VIH-II);
  - 60 (B) una enfermedad bacteriana producida por: micobacterias, *Rickettsia*, *Mycoplasma*, *Neisseria*, *S. pneumoniae*, *Borrelia burgdorferi*, *Bacillus anthracis*, *Bacillus tetani*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Mycobacterium*, tosferina, *Vibrio cholera*, *Pasteurella pestis*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Chlamydia*, *S. aureus* o *Legionella*; o
  - 65 (C) una enfermedad protozoaria o infección fúngica provocada por: *Leishmania*, *Kokzidioa*, *Trypanosoma*, *Schistosoma* o *Plasmodia*, *Candida*, neumonía por *Pneumocystis carinii*, *Cryptococcus*, coccidios,

*Aspergillus niger, Fusaria, Aspergillus fumigatus o Curvularia.*

- 5 9. Composición farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 3-8, en la que dicho sujeto es un ser humano.
10. Composición farmacéutica según la reivindicación 2, para su uso en el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria o una enfermedad inflamatoria.
- 10 11. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 10, en la que se ponen en contacto células inmunitarias que expresan o se inducen para expresar B7-H7CR con dicha composición farmacéutica.
- 15 12. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 10 o la reivindicación 11, en la que dicha enfermedad autoinmunitaria es celiaquía (enfermedad celíaca), alopecia areata, espondilitis anquilosante, síndrome antifosfolípidos, enfermedad de Addison autoinmunitaria, enfermedades autoinmunitarias de la glándula suprarrenal, anemia hemolítica autoinmunitaria, hepatitis autoinmunitaria, ooforitis y orquitis autoinmunitaria, trombocitopenia autoinmunitaria, enfermedad de Bechet, pénfigo vesicular, miocardiopatía, esprué celíaco-dermatitis, síndrome de fatiga crónica y disfunción inmunitaria (CFIDS), polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica, síndrome de Churg-Strauss, penfigoide cicatricial, síndrome CREST, enfermedad de crioaglutinina, enfermedad de Crohn, lupus discoide, crioglobulinemia mixta esencial, fibromialgia-fibromiositis, glomerulonefritis, enfermedad de Graves, Guillain-Barre, tiroiditis de Hashimoto, fibrosis pulmonar idiopática, púrpura trombocitopénica idiopática (ITP), neuropatía por IgA, artritis juvenil, liquen plano, lupus eritematoso, enfermedad de Meniere, enfermedad de tejido conjuntivo mixto, esclerosis múltiple, diabetes mellitus tipo 1 o mediada inmunitariamente, miastenia grave, pénfigo vulgar, anemia perniciosa, poliarteritis nudosa, policondritis, síndromes poliglandulares, polimialgia reumática, polimiositis y dermatomiositis, agammaglobulinemia primaria, cirrosis biliar primaria, psoriasis, artritis psoriásica, fenómeno de Raynaud, síndrome de Reiter, artritis reumatoide, sarcoidosis, esclerodermia, síndrome de Sjogren, síndrome del hombre rígido, lupus eritematoso sistémico, lupus eritematoso, arteritis de Takayasu, arteritis temporal/arteritis de células gigantes, colitis ulcerosa, uveítis, vasculitis, vitiligo y granulomatosis de Wegener.
- 20 25 30 35 13. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 10 o la reivindicación 11, en la que dicha enfermedad inflamatoria es un trastorno alérgico.
14. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 10 o la reivindicación 11, en la que dicha enfermedad inflamatoria es una enfermedad de injerto contra huésped o un rechazo de trasplante de órgano.



**FIG. 1**

		20		40
CD28	- - - - -	M L R L L L A L N L F P S - - - - -	- - - - -	I Q V T G N K I L V
CTLA-4	M A C L G F Q R H K A Q L N L A T R T W P C T L L F F L L F I P V F C K A M H V			
ICOS	- - - - -	M K S G L W Y F F L F C L R - - - - -	- - - - -	I K V L T G E I N G
PD-1	M Q I P Q A P W P V V W A V L Q L G W R P P G - - - - -	W F L D S P D R P W N P P T		
B7-H7CR	- - - - -	M G S P G M V L G L L V Q I W A L - - - - -	- - - - -	Q E A S S L S V Q
		60		80
CD28	K Q S P M L V A Y D N A V N - L S C K Y S Y N L F S R E F R A S L H K G L D S A			
CTLA-4	A Q P A V V L A S S R G I A S F V C E Y A S P G K A T E V R V T V L R Q A D S Q			
ICOS	S A N Y E M F I F H N G G V Q I L C K Y P - - D I V Q Q F K M Q L L K G G - - -			
PD-1	F S P A L L V V T E G D N A T F T C S F S - - N T S E S F V L N W Y R M S P S N			
B7-H7CR	Q G G P N L L Q V R Q G S Q A T L V C Q V D Q A T A W E R L R V K W T K D G - - -			
		100		120
CD28	V - E V C V V Y G N Y S Q Q L Q V Y S K T G F N C D G K L G N E S V T F Y L Q N			
CTLA-4	V T E V C A A T Y M M G N E L T F L D D S - - I C T G T S S G N Q V N L T I Q G			
ICOS	- Q I L C D L T K T K G S G N T V S I K S L K F C H S Q L S N N S V S F F L Y N			
PD-1	Q T D K L A A F P E - - D R S Q P G Q D C R F R V T Q L P N G R D F H M S V V R			
B7-H7CR	- - A I L C Q P Y I T N G S L S L G V C G P Q G R L S W Q A P S H L T L Q L D P			

FIG. 7





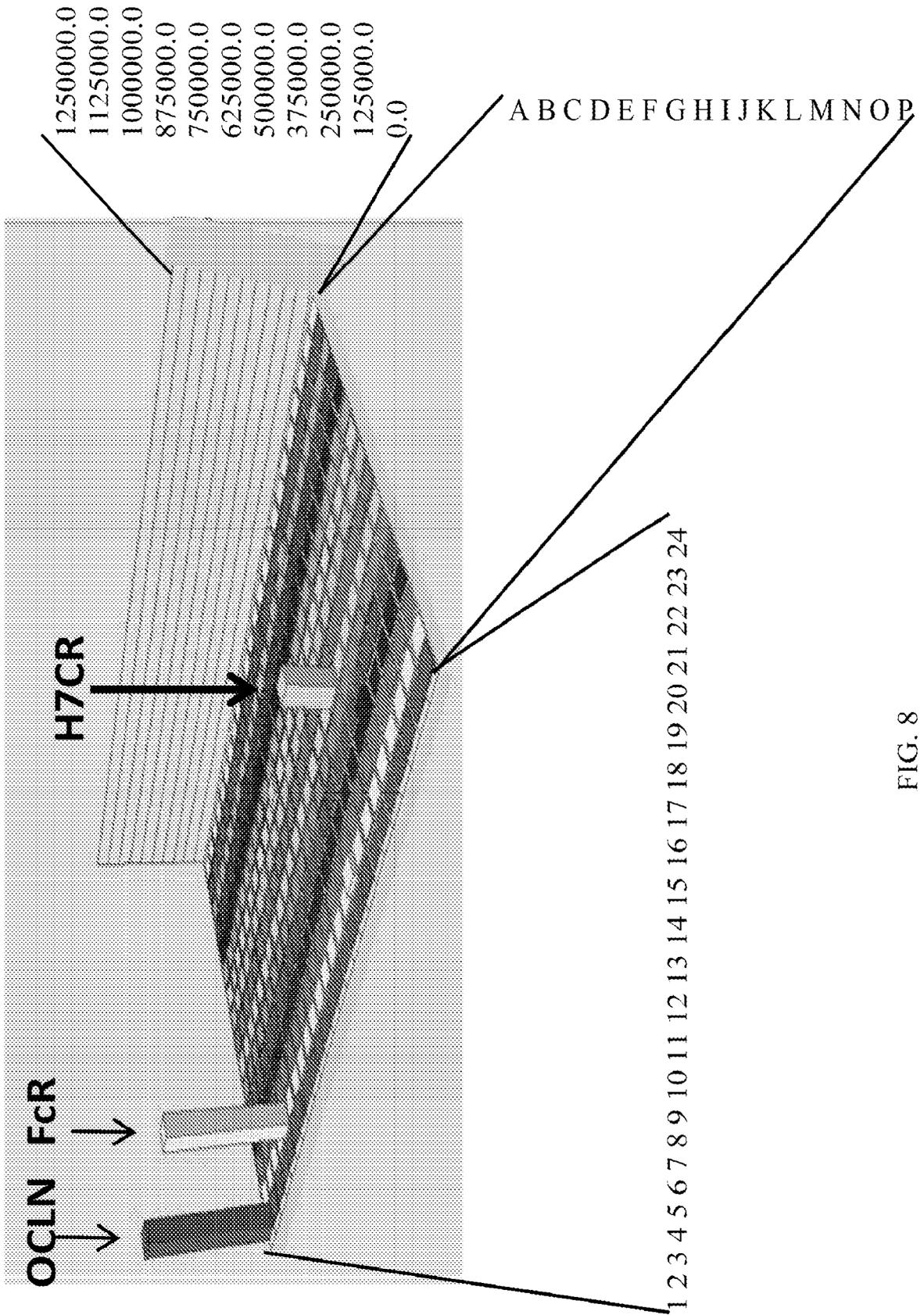


FIG. 8



	100		120
B7-1 humano	L T M S G D M N - - - - I W P E Y K N R T I F D I T N - - - - N L S I V I L		
B7-2 humano	L N E V Y L G K E - K F D S V H S K Y M G R T S F D S D - - - - S W T L R L H		
B7-DC humano	- - - - - - - - - - D T S P H R E R A T L L E E Q L P L G K A S F H I P		
B7-H1 humano	I Q F V H G E E D - - L K V Q H S S Y R Q R A R L L K D Q L S L G N A A L Q I T		
B7-H2 humano	V V T Y H I P Q N S S L E N V D S R Y R N R A L M S P A G M L R G D F S L R L F		
B7-H3 humano	L V H S F A E G - - - Q D Q G S A Y A N R T A L F P D L A Q G N A S L R L Q		
B7-H4 humano	L V H E F K E G K D E L S E Q D E M F R G R T A V F A D Q V I V G N A S L R L K		
B7-H7 humano	V H S Y Y K G S D - H L E S Q D P R Y A N R T S L F Y N E I Q N G N A S L F F R		
	140		160
B7-1 humano	A L R P S D E G T Y E C V L K Y E K D A F K R E H L A E V T L S V K A D - F P		
B7-2 humano	N L Q I K D K G L Y Q C I I H H K K P T G M I R I H Q M N S E L S V L A N F S Q		
B7-DC humano	Q V Q V R D E G Q Y R C M I I Y G V A W D Y K Y L T L K V K A S Y R K - - - I N		
B7-H1 humano	D V K L Q D A G V Y R C M I S Y G - G A D Y K R I T V K V N A P Y N K - - - I N		
B7-H2 humano	N V T P Q D E Q K F H C L V L S Q S L G F Q E V L S V E V T L H V A A N - - F S		
B7-H3 humano	R V R V A D E G S F T C F V S I R - D F G S A A V S L Q V A A P Y S K - - P S		
B7-H4 humano	N V Q L T D A G T Y K C Y I I T S K G K G N A N L E Y K T G A - - - - F S		
B7-H7 humano	R V S L L D E G I Y T C Y V G T A I Q V I T N K V V L K V G V - - - - F L		

FIG 9. cont.

		180		200
B7-1 humano	T P S I S D F E I P T S N I R R I C S T S G G F P E P H - - - L S W L E N G			
B7-2 humano	P E I V P I S N I T E N V Y I N L T C S S I H G Y P E P K M S V L R T K N S			
B7-DC humano	T H I L K V P - E T D E V E L T C Q A T - - - G Y P L A E - - - V S W P N - -			
B7-H1 humano	Q R I L V V D P V T S E H E L T C Q A E - - - G Y P K A E - - - V I W T S S D			
B7-H2 humano	V P V V S A P H S P S Q D E L T F T C T S I N G Y P R P N - - - V Y W I N K T			
B7-H3 humano	M T L E P N K D L R P G D T V T I T C S S Y Q G Y P E A E - - - V F W Q D G Q			
B7-H4 humano	M P E V N V D Y N A S S E T L R C E A P - - R W F P Q P T - - - V V W A S Q V			
B7-H7 humano	T P V M K Y E K R N T N S F L I C S V L S - - - V Y P R P I - - - I T W K M D N			
		220		240
B7-1 humano	I E E L N A I N T T V S Q D P E T - - - E L Y A V S S K L D F P N M T N H S F M C			
B7-2 humano	T I E Y D G V M Q K S Q D N V T E L Y D V S I S L S V S F P D V T S N M T I F C			
B7-DC humano	I - - V S V P A N T T S H S R T P - - E G L Y Q V T S V L R L K P P P G R N F S C			
B7-H1 humano	H Q V L S G K T T T N S K R E - - E K L F N V T S T L R I N T T T N E I F Y C			
B7-H2 humano	D N S L L D Q A L Q N D T V F L N M R G L Y D V V S V L R I A R T P S V N I G C			
B7-H3 humano	G V P L T G N V T T S Q M A N E - - Q G L F D V H S I L R V V L G A N G T Y S C			
B7-H4 humano	D Q G A N F S E V S N T S F E L N S E N V T M K V V S V L Y N V T I N N T Y S C			
B7-H7 humano	I T P I S E N N M E E T G S L D S - - - F S I N S P L N I T G S - N S S Y E C			

FIG 9. cont.







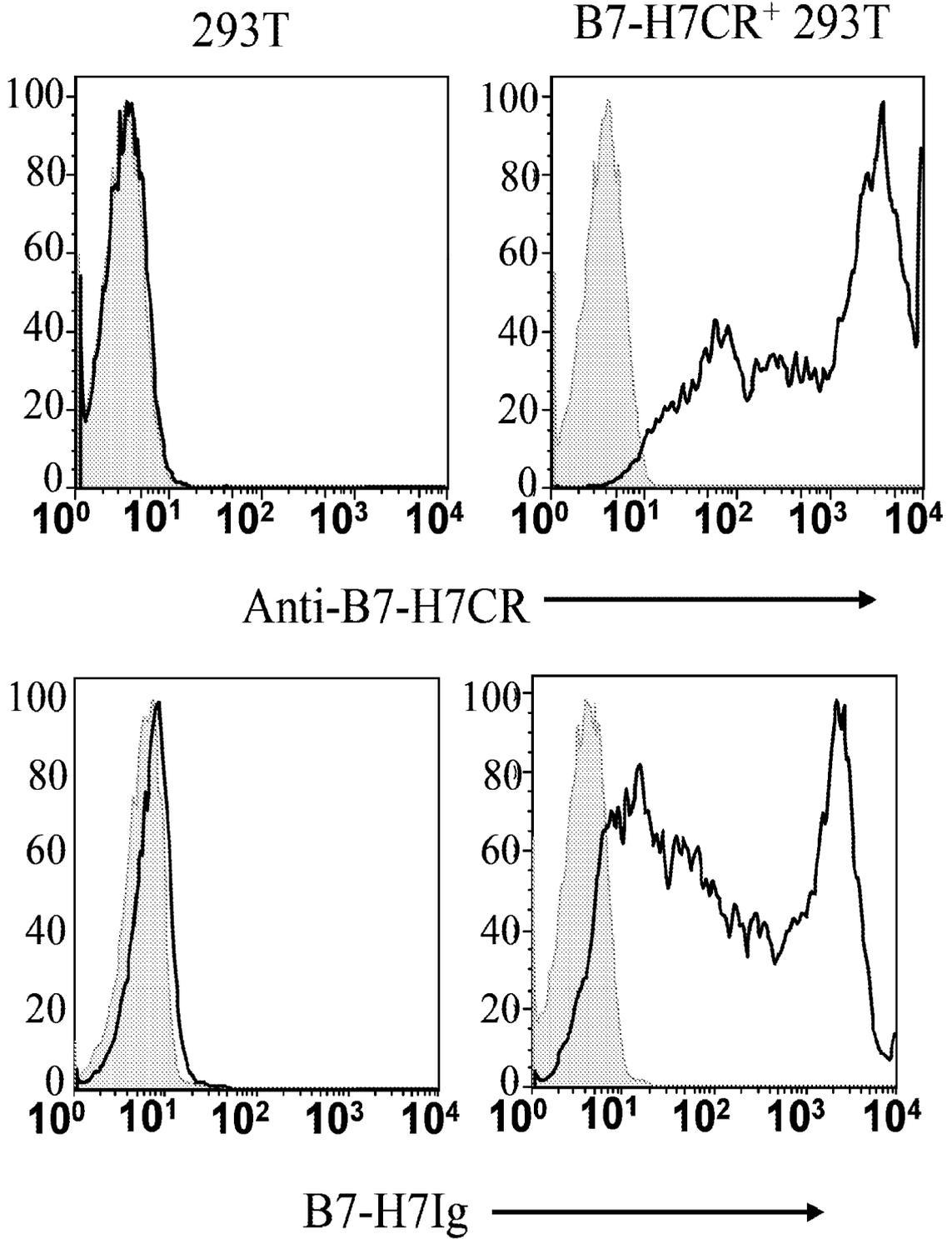


FIG. 10A

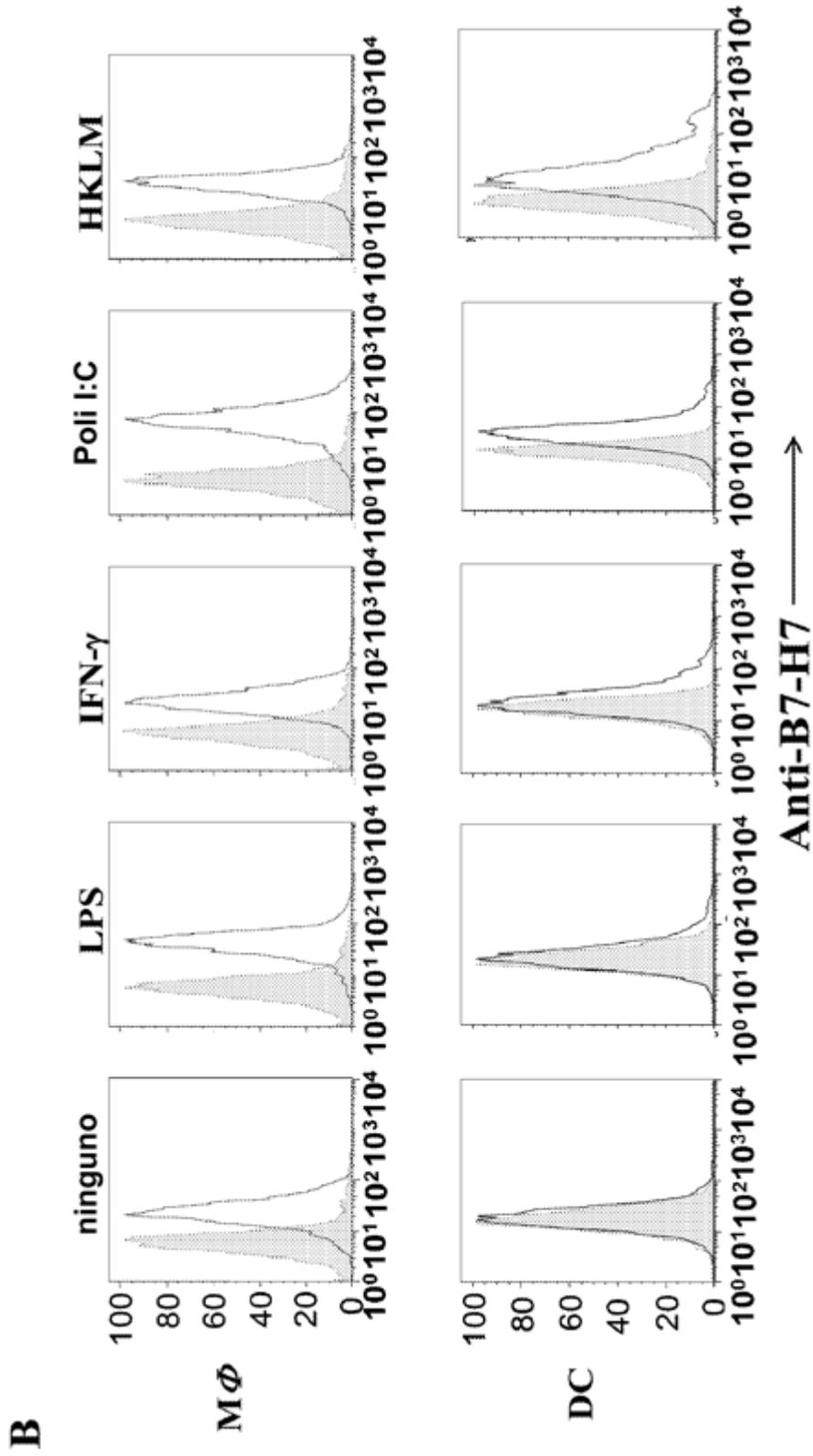


FIG. 10B

**C**

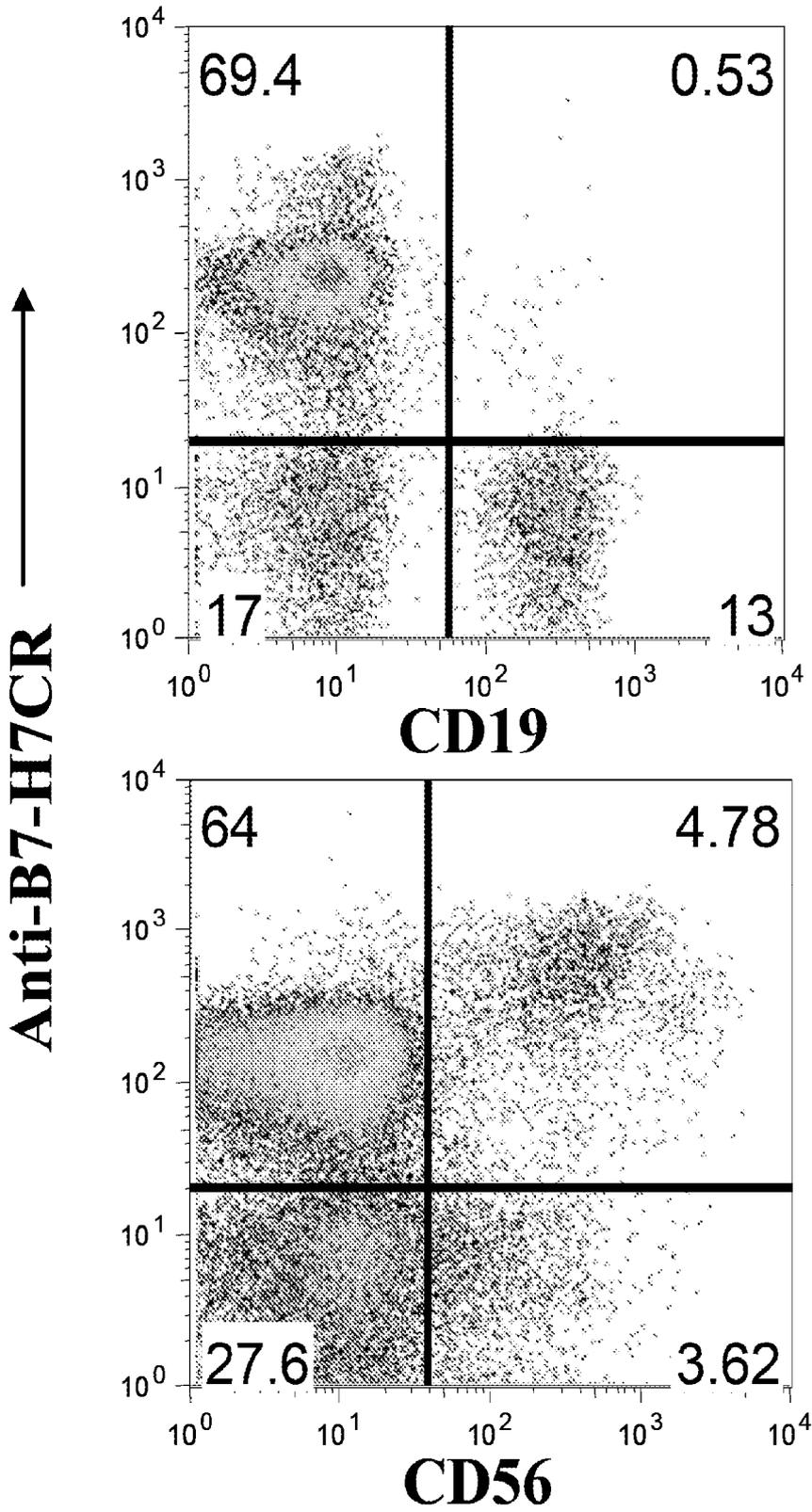


FIG. 10C

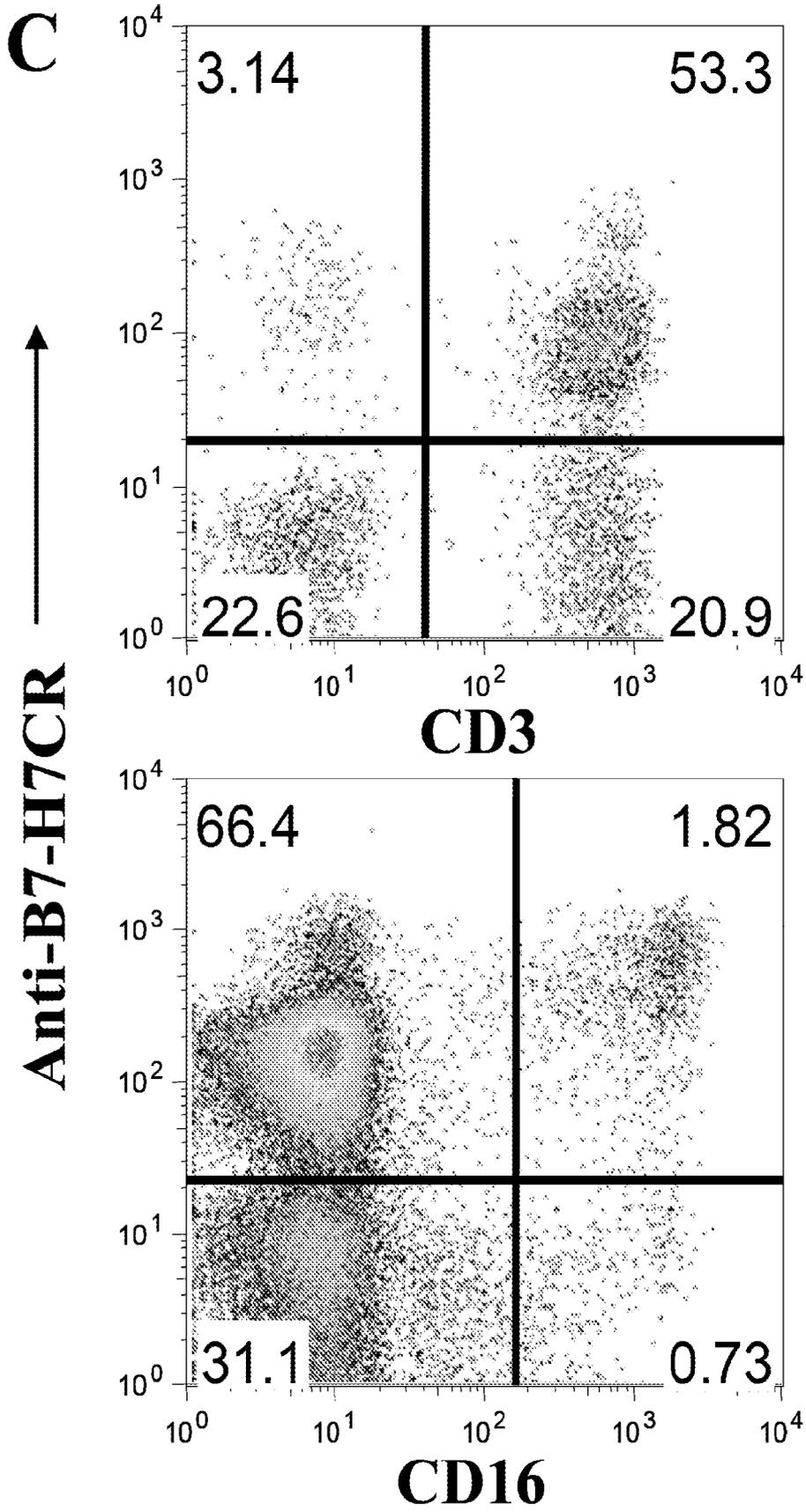


FIG. 10C cont.

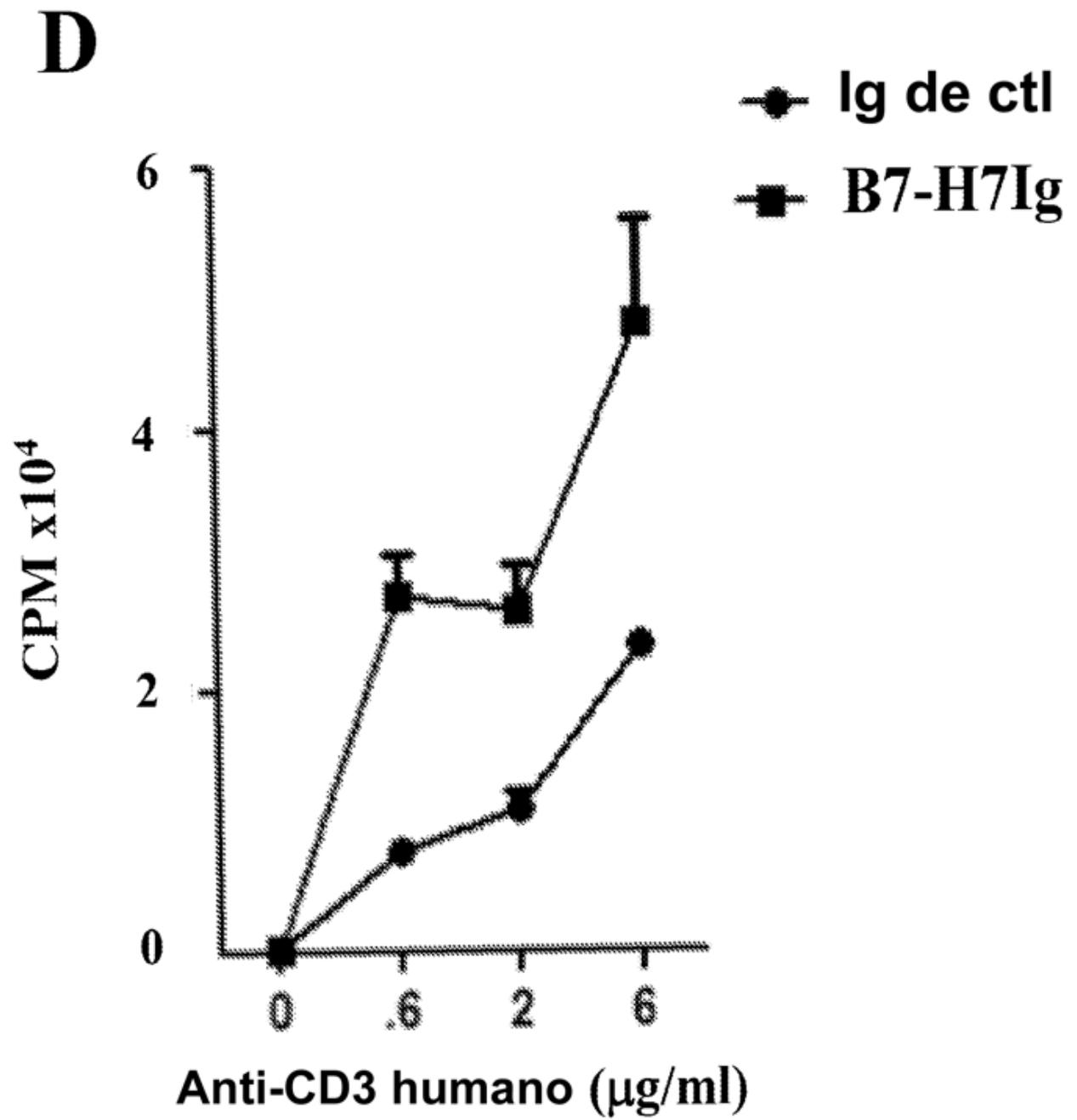


FIG. 10D

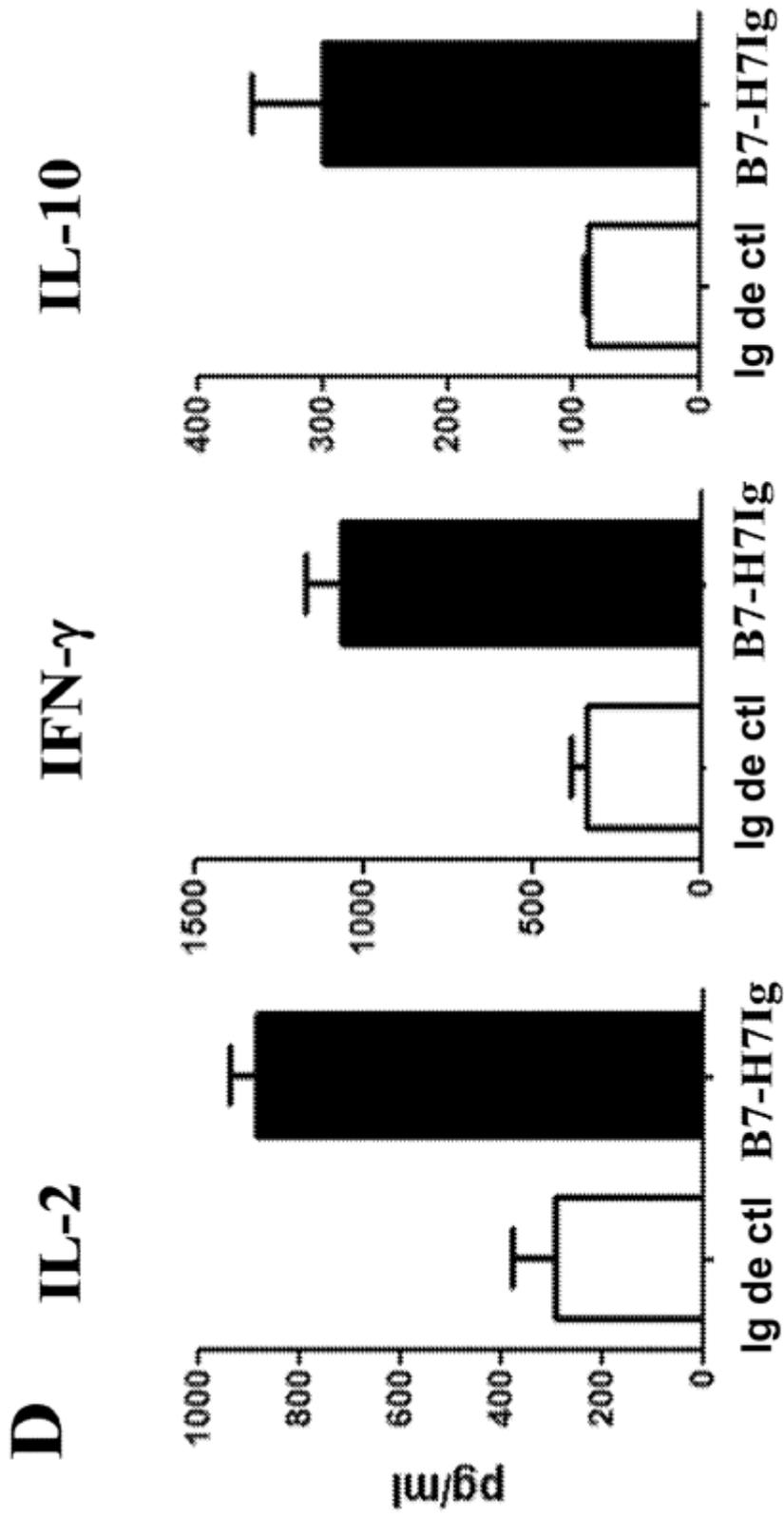


FIG. 10D cont.

**E**

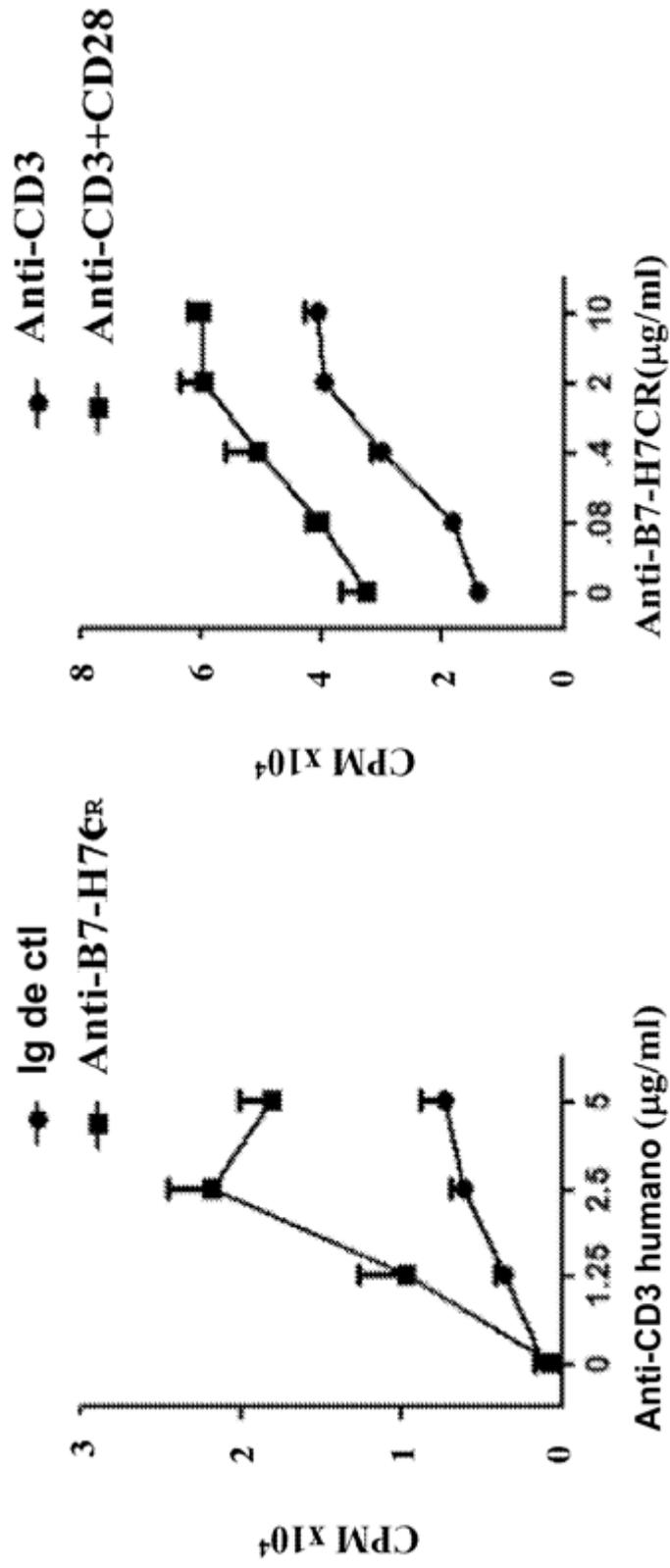


FIG. 10E

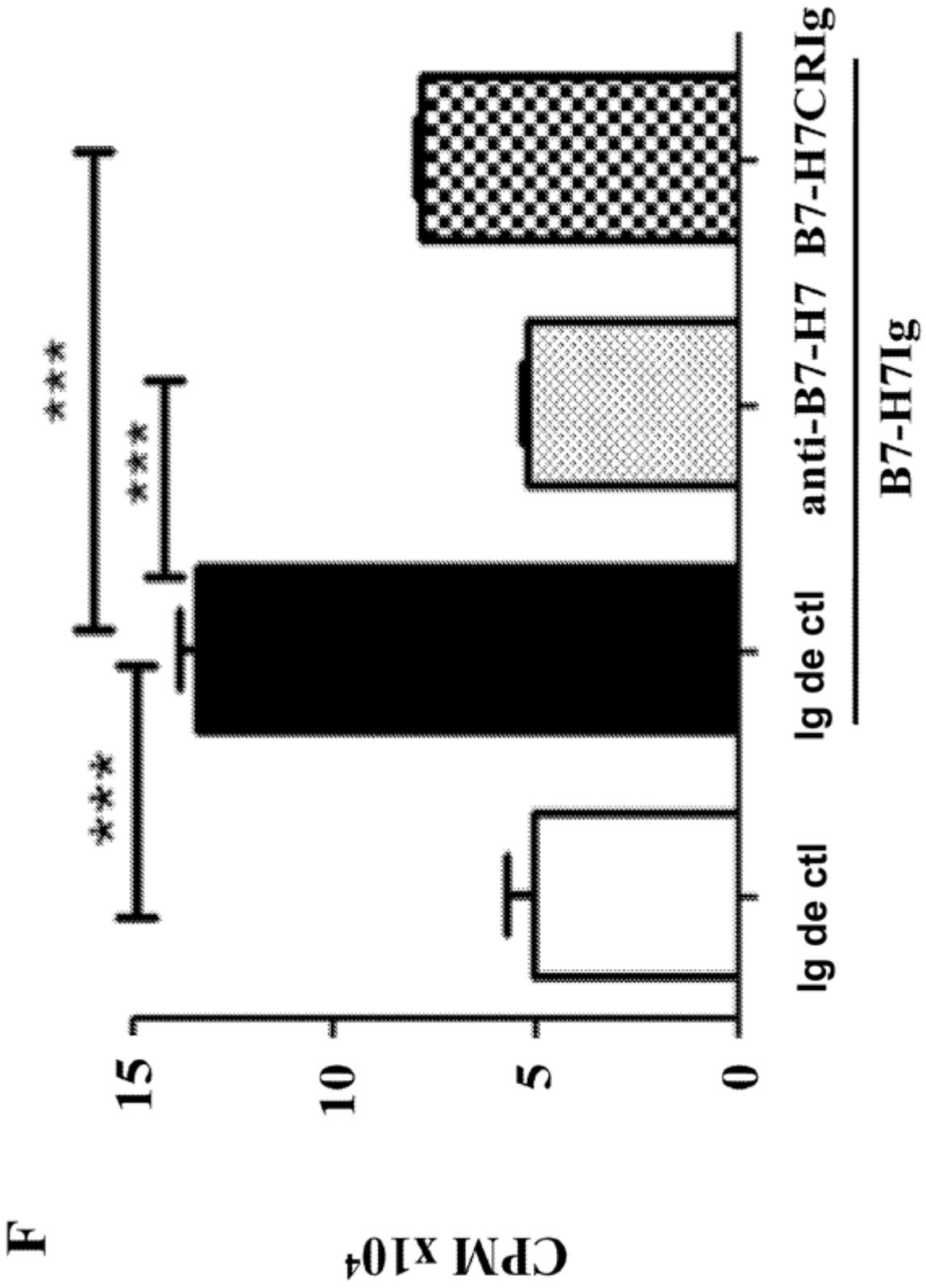


FIG. 10F

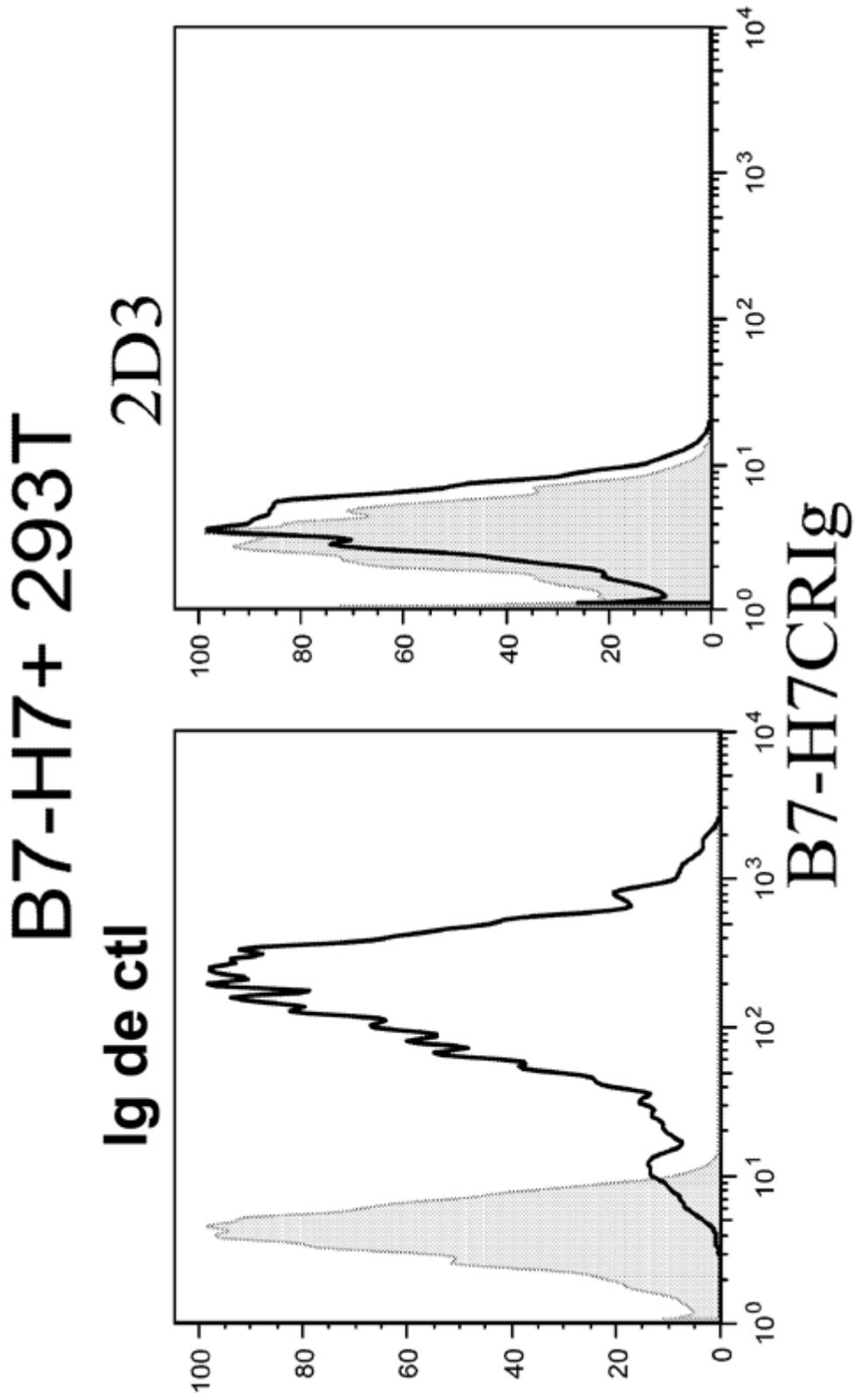


FIG. 11

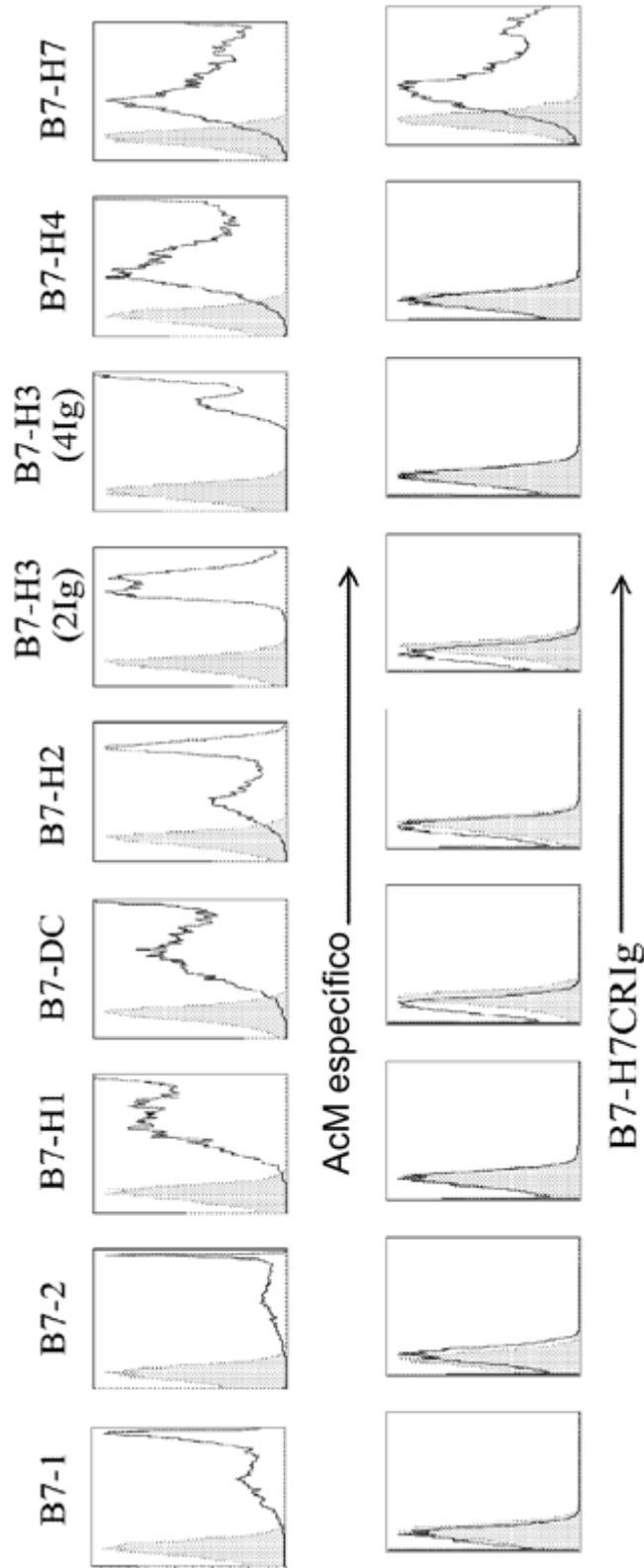


FIG. 12

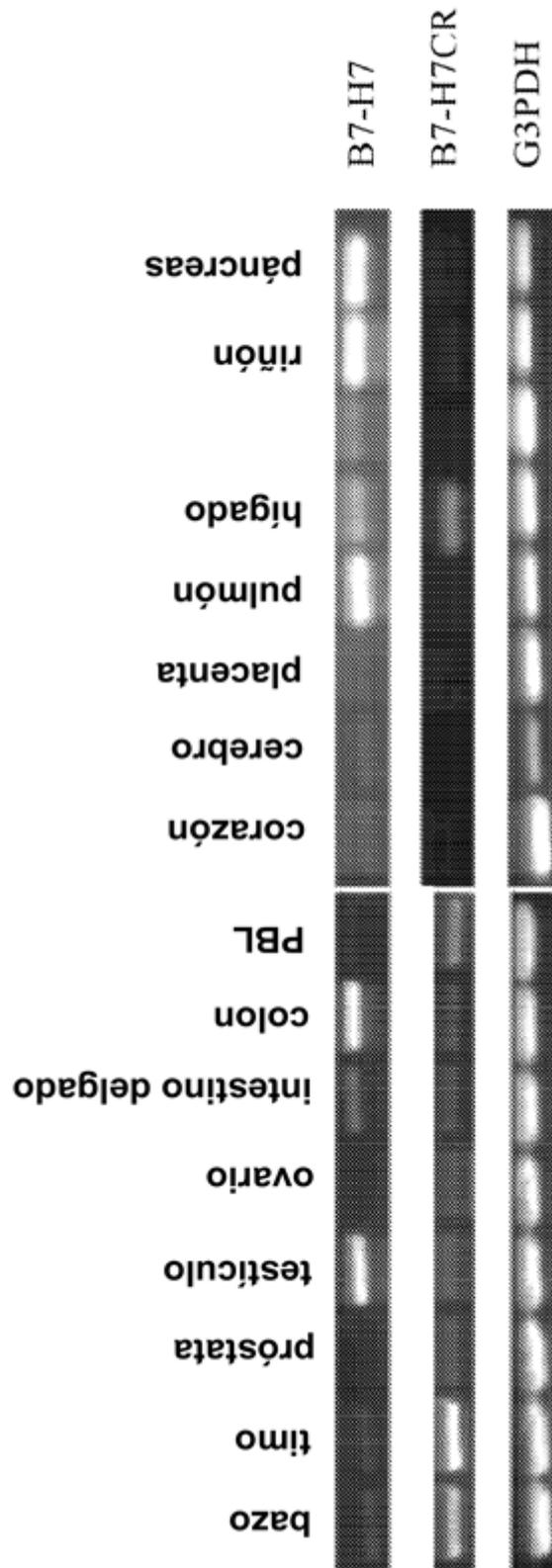


FIG. 13

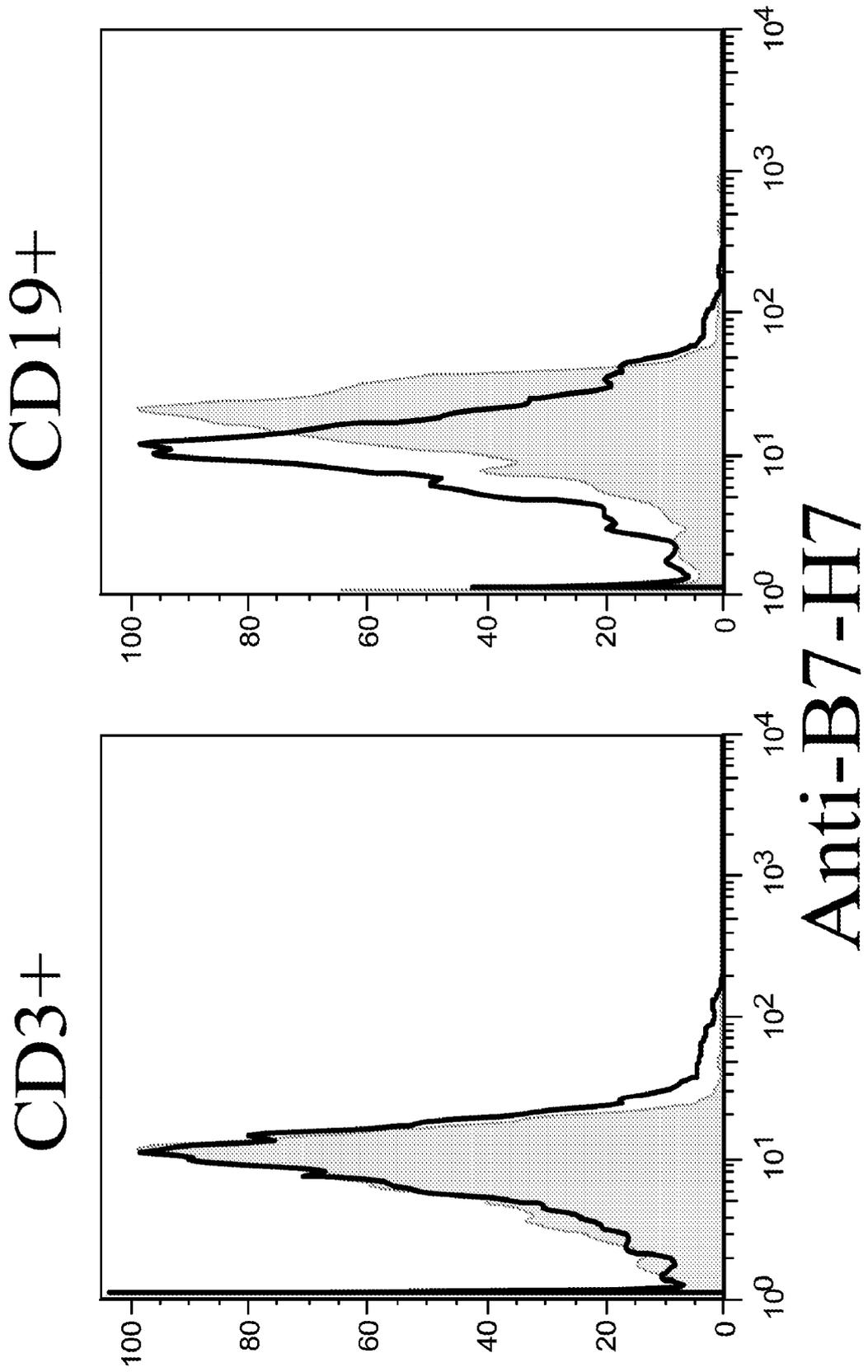


FIG. 14

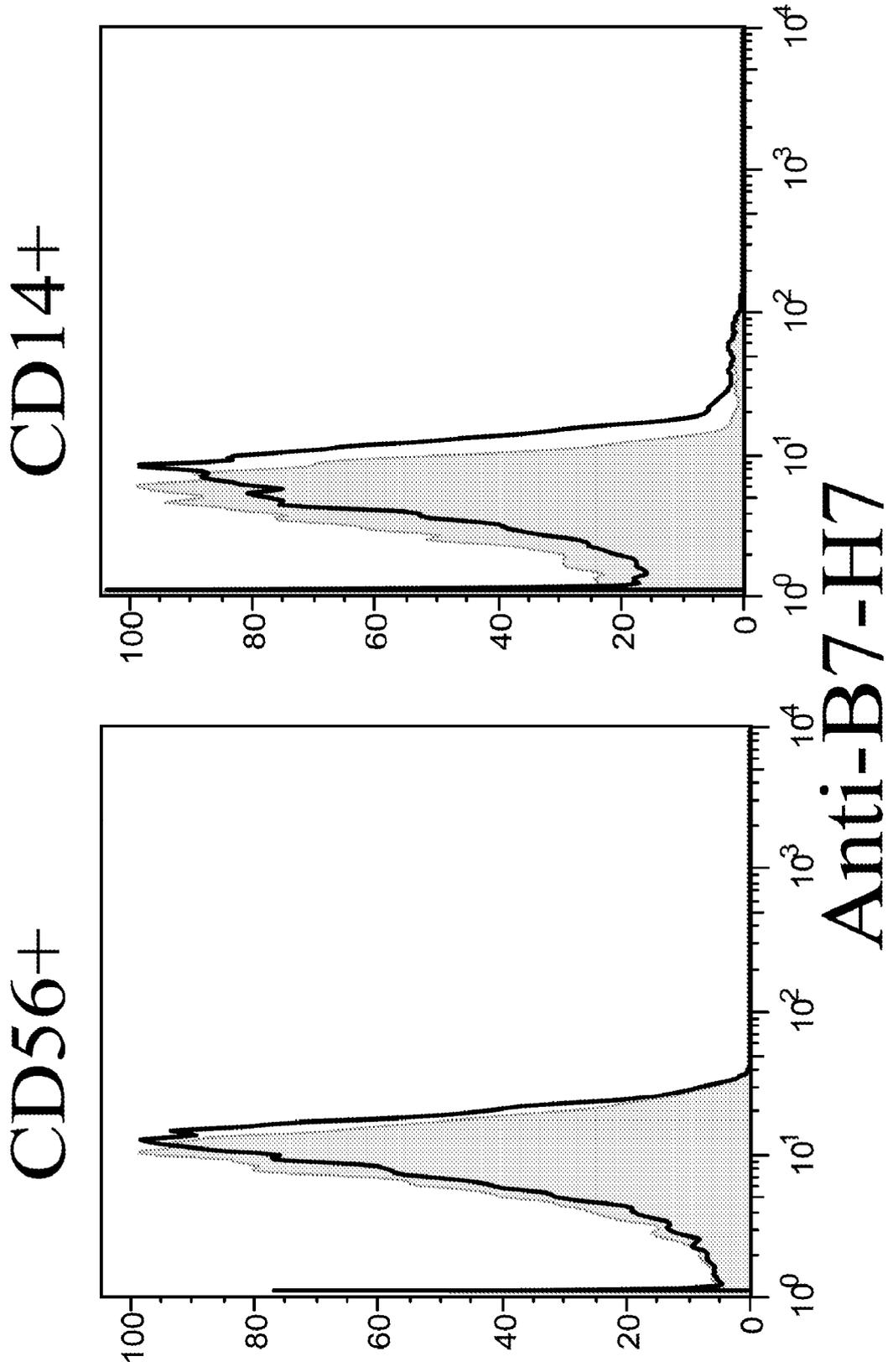


FIG. 14 cont.

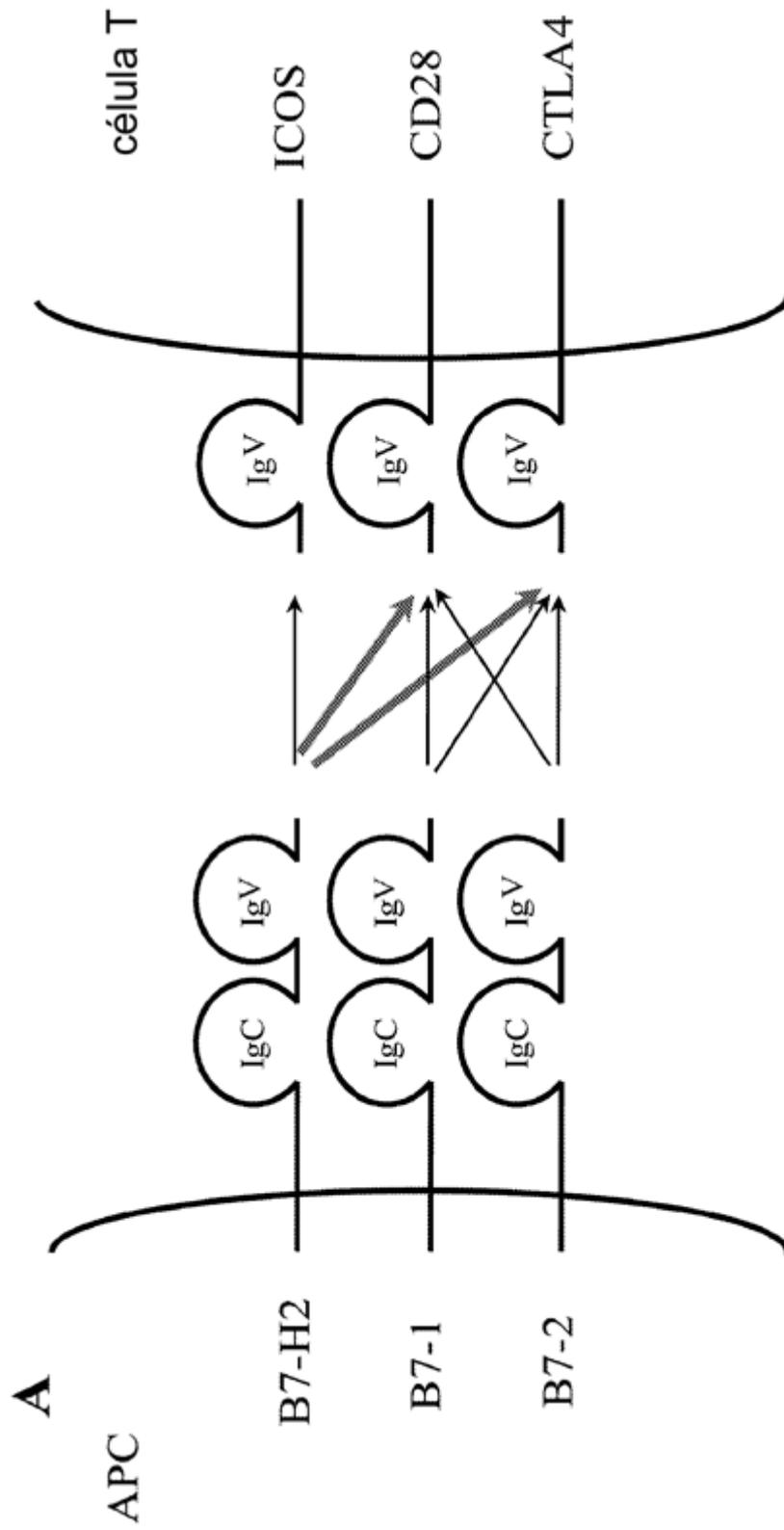


FIG. 15A

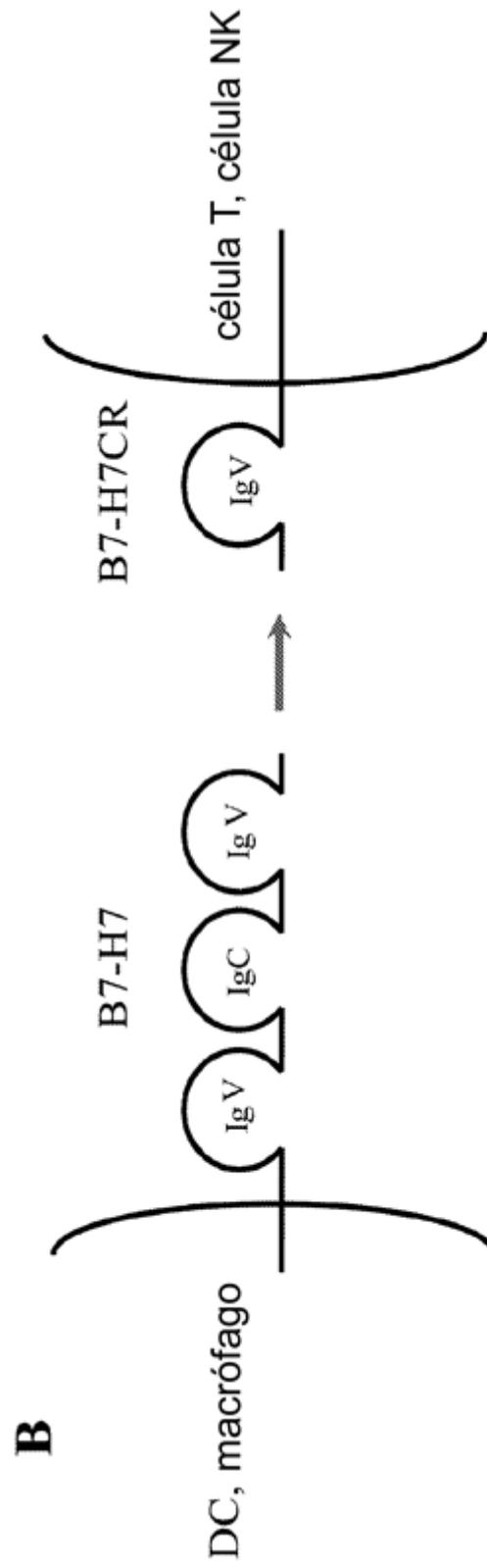


FIG. 15B

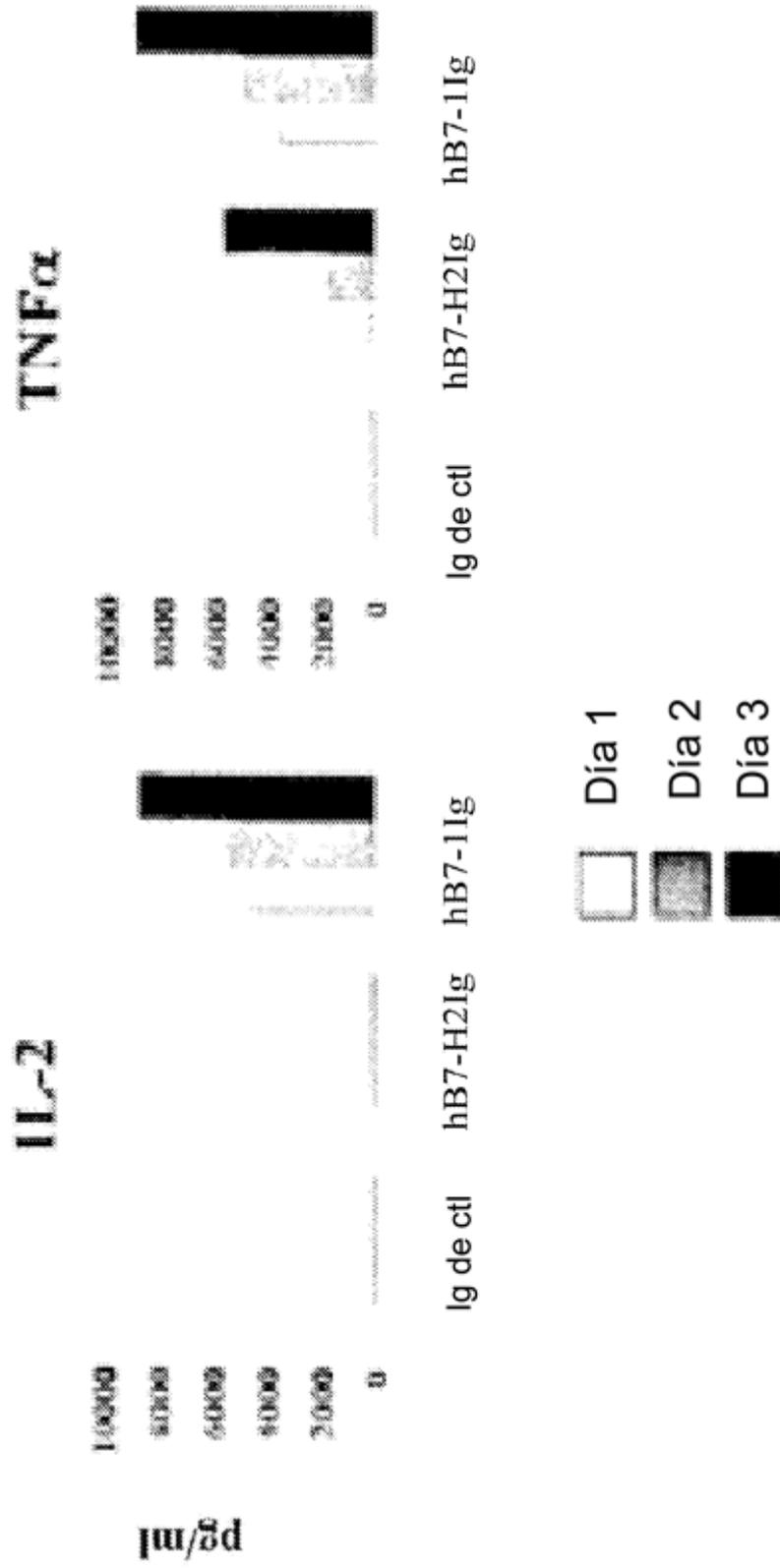


FIG. 22

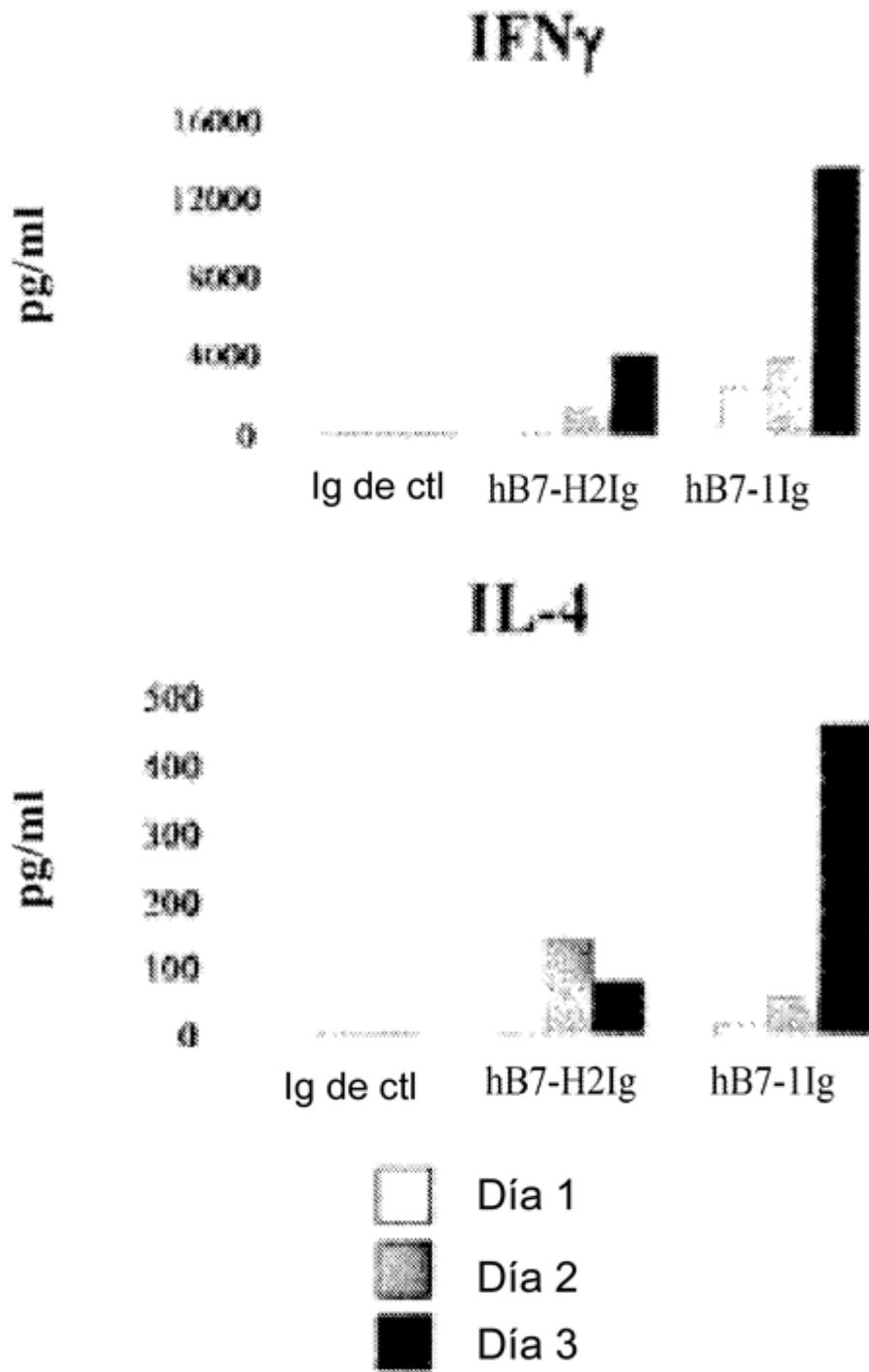


FIG. 22 cont.

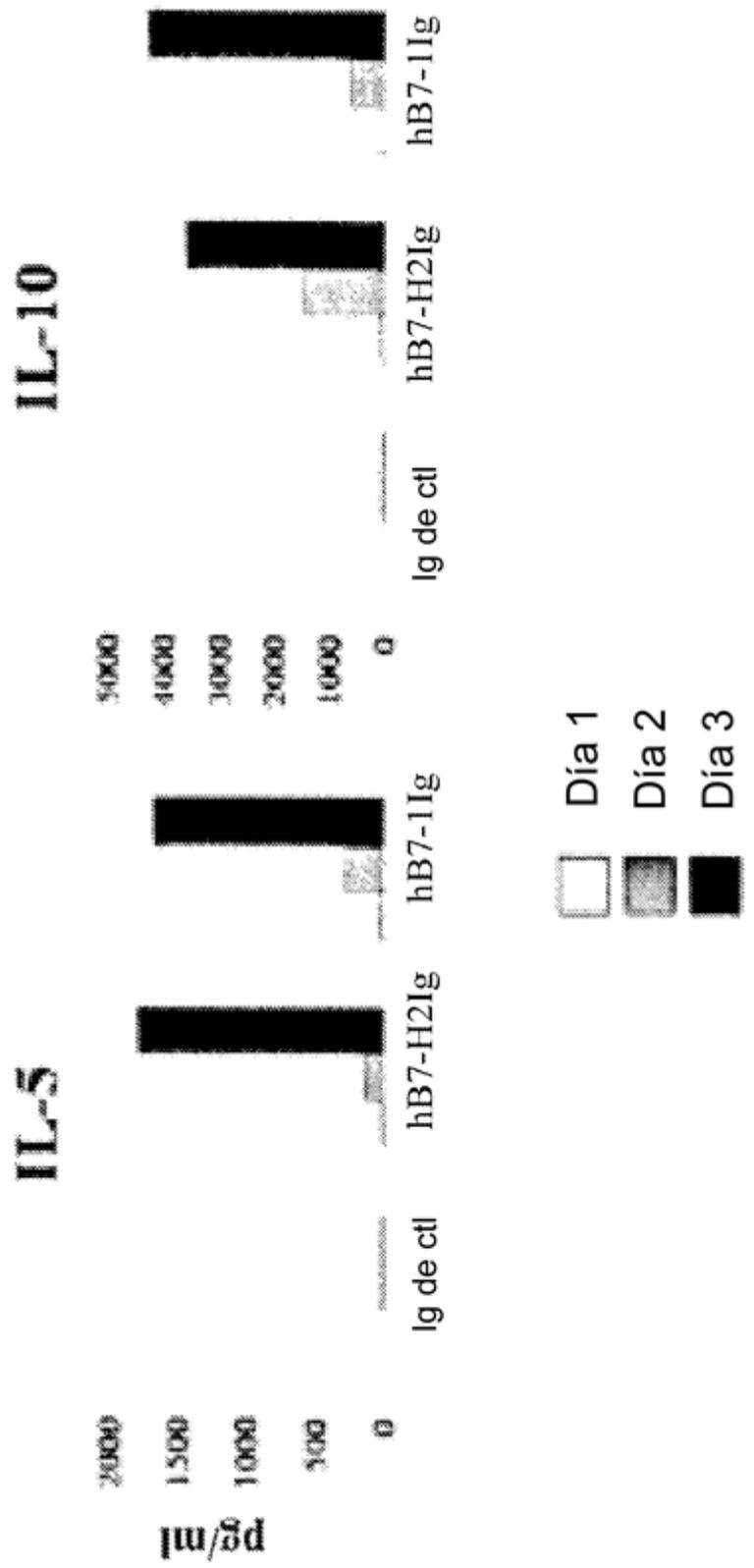


FIG. 22 cont.

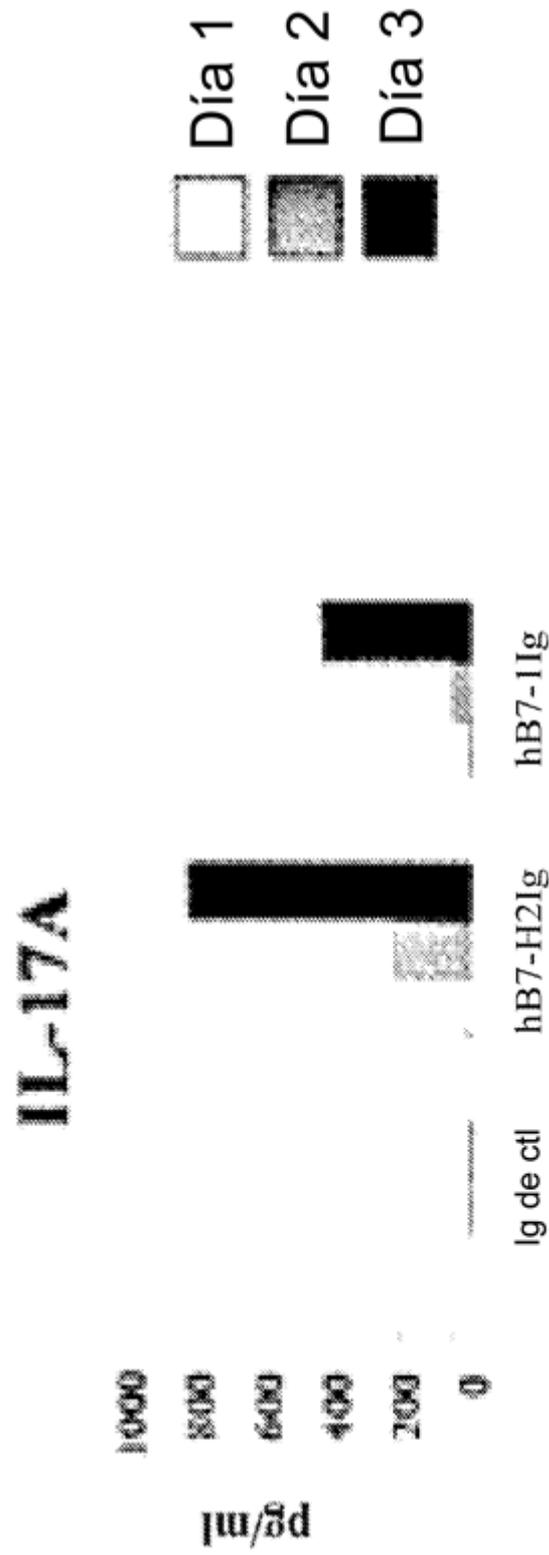


FIG. 22 cont.

Vista de secuencias: Formato de similitud, áreas de color de altas coincidencias en la misma posición de base

```

proteina hB7-H7.t      1 mksqtaLstflllLltsLgsgqglfLaaffLpymneqivigrIdedilLpsfargsevviwkvypd---sykVnsyykgsdhlesqdyrYanrtsIfyneIqnguaslffrrvslldegLytcyyvgtai
pro B7-H7 de rhesus  1 mksqt--sfllLlssLgsgqglfLaaffLpymneqivigrIgedilLpsfargsevviwkvypdyusyykgsgrlesqdyrYanrtsIfyneIqnguaslffrrlslldegLytcyyvgtai
prot B7-H7 de chimp. 1 mksqtaLstflllLltsLgsgqglfpmafstypvneqivigrIdedilLpsfargsevviwkvypd---sykVnsyykgsdhlesqdyrYanrtsIfyneIq-puaslfSprvslldegLytcyyvgtai

proteina hB7-H7.t    129 qvItnkVvIkVovfItPmkYekrntnsfLicsvLsvYpripItwkdntpIsenmteetgsldsfinspInIsgusspeetciensIlkqtvtgrwtkdglhbmqsehvsLscqpvndyfspuqdfk
pro B7-H7 de rhesus 129 qaitnkVvIkVovfItPmkYekrntnsfLienvLsvYpripItwkdntpIsenmteetgsLgpfnsInstInIsgusspeetciensIlkqtvtgrwtkdglhbmqsehvsLscelVndyfspuqdfk
prot B7-H7 de chimp.127 qvItnkVvIkVovfItPmkYekrntnsfLicsvLsvYpripItwkdntpIsenmteetgsldsfinspInIsgusspeetciensIlkqtvtgrwtkdglhbmqsehvsLscqpvndyfspuqdfk

proteina hB7-H7.t    258 vtWsrnkSgrfsvLayYlssqqtInesrfswntkLInqsdFsmLmDInIsdgyLcniSdeYtIltIhtVhVpsqetashnkglvrlVpsaIlaafl--lIevtkccraajIearrstrhpadaq
pro B7-H7 de rhesus 259 vtWsrneSgIssLayYlssqqtLfyeerfswntkLInqsdFsmLbDIsLdgyYcniSdeYtIltIhtVhVpsqetashnkglvIlvaaIlIvclIliWkVkstajIearrstrypadaq
prot B7-H7 de chimp.257 vtWsrnkSgrfsvLayYlssqqtInesrfswntkLInqsdFsmLmDInIsdgyYcniSdeYtIltIhtVhVpsqetashnkglvIlVpsvIlaafl--lIvtVkroraqIearrstrhpadaq

proteina hB7-H7.t    386 qerccvppgercpaapdngenev-pLsgkv
pro B7-H7 de rhesus -----
prot B7-H7 de chimp.385 qerYcYppgehcPaapdngenevrvsvqkv
    
```

FIG. 23



