República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) BR 112020018480-2 B1

(22) Data do Depósito: 13/03/2019

(45) Data de Concessão: 27/09/2022

(54) Título: USOS DE ANTICORPOS QUE SE LIGAM A CD39 NO TRATAMENTO DE CÂNCER

(51) Int.Cl.: C07K 16/30; C07K 16/28; A61K 39/395; A61P 35/02.

(30) Prioridade Unionista: 08/02/2019 US 62/803,235; 14/03/2018 US 62/642,938.

(73) Titular(es): SURFACE ONCOLOGY, INC..

(72) Inventor(es): SCOTT CHAPPEL; ANDREW LAKE; MICHAEL WARREN; AUSTIN DULAK; ERIK DEVEREAUX; PAMELA M. HOLLAND; TAUQEER ZAIDI; MATTHEW RAUSCH; BIANKA PRINZ; NELS P. NIELSON; SONIA DAS.

(86) Pedido PCT: PCT US2019022108 de 13/03/2019

(87) Publicação PCT: WO 2019/178269 de 19/09/2019

(85) Data do Início da Fase Nacional: 10/09/2020

(57) Resumo: A presente invenção refere-se a anticorpos anti-CD39 e porções de ligação ao antígeno dos mesmos e seu uso no tratamento do câncer.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"USOS DE ANTICORPOS QUE SE LIGAM A CD39 NO TRATAMENTO DE CÂNCER".**

[001] Este pedido reivindica o benefício de prioridade ao Pedido Provisório US 62/642,938, depositado em 14 de março de 2018, e ao Pedido Provisório US 62/803,235, depositado em 8 de fevereiro de 2019, e que são incorporados por referência na sua totalidade.

LISTAGEM DE SEQUÊNCIAS

[002] O presente pedido contém uma Listagem de sequências, que foi submetida eletronicamente no formato ASCII e está incorporada por meio deste a título de referência na sua totalidade. A referida cópia ASCII, criada em 12 de março de 2019, é denominada 01219-0003-00PCT_ST25.txt e tem 178.244 bytes de tamanho.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

[003] O câncer é capaz de crescer subvertendo as vias imunossupressoras, para impedir que as células malignas sejam reconhecidas como perigosas ou estranhas. Esse mecanismo evita que o câncer seja eliminado pelo sistema imunológico e permite que a doença progrida desde o estágio inicial até o estado letal. As imunoterapias são intervenções recém-desenvolvidas que modificam o sistema imunológico do paciente para combater o câncer, estimulando diretamente processos do tipo rejeição ou bloqueando as vias supressoras. A adenosina extracelular gerada pelas ectonucleotidases CD39 e CD73 é um "mediador do ponto de verificação imune" recentemente reconhecido que interfere nas respostas imunes antitumorais. A adenosina é um metabólito imunomodulatório no microambiente tumoral (TME). Em alguns cânceres, a adenosina extracelular acumula e subsequentemente inibe a função das células imunes, incluindo células T, células dendríticas (DC) e células NK, contribuindo assim para a supressão imune antitumoral e favorecendo

o crescimento tumoral.

[004] A ectonucleotidase CD39 hidrolisa adenosina trifosfato extracelular (ATP) e difosfato de adenosina (ADP) para gerar adenosina, que se liga aos receptores de adenosina e inibe células imunes, como células T e células assassinas naturais (NK), suprimindo o sistema imunológico. A superexpressão de CD39 está associada a um mau prognóstico em pacientes com certos tipos de câncer. Dentro do TME, a via da adenosina refere-se à conversão extracelular de ATP em adenosina e à sinalização de adenosina através dos receptores A2A/A2B de adenosina nas células imunes. Sob condições normais, o CD39 trabalha para manter o equilíbrio dos níveis extracelulares de adenosina imunossupressora e ATP imunoestimulatório. Em tecidos saudáveis, o ATP quase não é detectável no ambiente extracelular porque o ATP é rapidamente decomposto pelo CD39 para gerar adenosina monofosfato, ou AMP, que é então convertido em adenosina pelo CD73. Em condições de estresse celular, incluindo câncer, os níveis de ATP extracelular aumentam significativamente, mas porque o ATP é rapidamente quebrado, levando a baixos níveis de ATP juntamente com altos níveis de adenosina, reconhecimento do tumor pelo sistema imunológico e, portanto, a resposta imunológica contra o tumor, é impedida.

[005] Continua a haver uma necessidade não atendida do desenvolvimento de novas terapias contra o câncer. Novas combinações com terapias e regimes terapêuticos existentes também são necessárias para combater com mais eficácia vários tipos de câncer.

SUMÁRIO DA DIVULGAÇÃO

[006] São divulgados aqui anticorpos, ou porções de ligação ao antígeno dos mesmos, que se ligam e antagonizam CD39 humano (Cluster of Differentiation 39) com alta afinidade e especificidade. Os

anticorpos anti-CD39 divulgados são inibidores alostéricos não competitivos de CD39. Em algumas modalidades, os anticorpos anti-CD39 permitem a ligação ao substrato (ATP), mas proíbem sua conversão em ADP e/ou adenosina, mantendo ou intensificando os níveis de ATP no microambiente tumoral (TME) e/ou impedindo níveis indesejáveis de adenosina no TME. Também são fornecidas moléculas de ácido nucleico que codificam as moléculas de anticorpo, vetores de expressão, células hospedeiras e métodos para produzir as moléculas de anticorpo. Também são fornecidas composições farmacêuticas compreendendo as moléculas de anticorpo. Os anticorpos anti-CD39, ou porções de ligação ao antígeno dos mesmos, aqui divulgados podem ser usados (isoladamente ou em combinação com outros agentes ou procedimentos terapêuticos) para tratar, prevenir e/ou diagnosticar distúrbios, incluindo distúrbios imunológicos e câncer. Assim, composições e métodos para tratamento e/ou diagnóstico de vários distúrbios, incluindo câncer e distúrbios imunológicos, utilizando as moléculas de anticorpo anti-CD39 são divulgados aqui.

[007] Em um aspecto, a divulgação fornece anticorpos anti-CD39, incluindo anticorpos, que se ligam e antagonizam CD39 humano, ou uma porção de ligação a antígeno do mesmo, em que o anticorpo ou a porção de ligação a antígeno do mesmo exibe uma ou mais das seguintes propriedades:

(a) liga-se a CD39 humano recombinante e/ou a CD39 humano ligado à membrana;

(b) liga-se a CD39 humano com uma constante de dissociação (K_D) de equilíbrio inferior a 10 nM;

(c) inibe ou reduz uma atividade enzimática do CD39 humano;

(d) inibe ou reduz a conversão por CD39 humano de

adenosina trifosfato extracelular (eATP) ou adenosina difosfato extracelular (eADP) em adenosina monofosfato extracelular (eAMP);

(e) aumenta ou intensifica um nível de eATP;

(f) diminui ou reduz um nível de adenosina extracelular;

(g) mantém, aumenta ou intensifica um nível imunoestimulatório de eATP;

(h) aumenta ou intensifica a proliferação de um linfócito;

(i) aumenta ou intensifica a expressão de um ou mais marcadores de ativação de células dendríticas;

(j) aumenta ou intensifica a secreção de uma ou mais citocinas das células dendríticas;

(k) aumenta ou intensifica a infiltração de macrófagos nos tumores;

(l) aumenta ou intensifica a secreção de macrófagos que atraem quimiocinas;

(m) antagoniza CD39 humano em um microambiente tumoral de um tecido;

(n) reage de forma cruzada com o CD39 cynomolgus; e

(o) uma combinação de qualquer um de (a) - (n).

[008] Em algumas modalidades, um anticorpo anti-CD39 isolado é fornecido compreendendo, consistindo ou consistindo essencialmente em:

i) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada compreendendo SEQ ID NOs: 1, 2 e 3, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve compreendendo SEQ ID NOs: 11, 12 e 13, respectivamente; ou

ii) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada compreendendo SEQ ID NOs: 4, 5 e 6, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve compreendendo SEQ ID NOs: 15, 16 e 17, respectivamente; ou

iii) uma cadeia pesada variável pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 7, e uma cadeia leve variável pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 7; ou

iv) uma cadeia pesada pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 , e uma cadeia leve pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO : 19; ou

v) uma cadeia pesada pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 21, e uma cadeia leve pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 19; ou

vi) uma cadeia pesada pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 23, e uma cadeia leve pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO : 19; ou

vii) uma cadeia pesada pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 25, e uma cadeia leve pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 19; ou

viii) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada compreendendo SEQ ID NOs: 27, 28, e 29, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve compreendendo SEQ ID NOs: 37, 38, e 39, respectivamente; ou

ix) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada compreendendo SEQ ID NOs: 30, 31, e 32, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve compreendendo SEQ ID NOs: 40, 41, e 42, respectivamente; ou

x) uma cadeia pesada variável pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 33, e uma cadeia leve variável pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 43; ou

xi) uma cadeia pesada pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 35, e uma cadeia leve pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 45; ou

xii) uma cadeia pesada pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 47, e uma cadeia leve pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 45; ou

xiii) uma cadeia pesada pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 49, e uma cadeia leve pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 45; ou

xiv) uma cadeia pesada pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, e uma cadeia leve pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 45; ou

xv) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada compreendendo SEQ ID NOs: 53, 54, e 55, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve compreendendo SEQ ID NOs: 63, 64, e 65, respectivamente; ou

xvi) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada compreendendo SEQ ID NOs: 56, 57, e 58, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve compreendendo SEQ ID NOs: 66, 67, e 68, respectivamente; ou

xvii) uma cadeia pesada variável pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 59, e uma cadeia leve variável pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 69; ou

xviii) uma cadeia pesada pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 61, e uma cadeia leve pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 71; ou

xix) uma cadeia pesada pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 73, e uma cadeia leve pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 71; ou

xx) uma cadeia pesada pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 75, e uma cadeia leve pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 71; ou

xxi) uma cadeia pesada pelo menos 90%, 91%, 92%,

93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 77, e uma cadeia leve pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 71; ou

xxii) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada compreendendo SEQ ID NOs: 79, 80, e 81, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve compreendendo SEQ ID NOs: 89, 90 e 91, respectivamente; ou

xxiii) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada compreendendo SEQ ID NOs: 82, 83, e 84, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve compreendendo SEQ ID NOs: 92, 93, e 94, respectivamente; ou

xxiv) uma cadeia pesada variável pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 85, e uma cadeia leve variável pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 95; ou

xxv) uma cadeia pesada pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 87, e uma cadeia leve pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 97; ou

xxvi) uma cadeia pesada pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 99, e uma cadeia leve pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 97; ou

xxvii) uma cadeia pesada pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência

de aminoácidos de SEQ ID NO: 101, e uma cadeia leve pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 97; ou

xxviii) uma cadeia pesada pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 103, e uma cadeia leve pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 97; ou

xxix) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada compreendendo SEQ ID NOs: 105, 106, e 107, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve compreendendo SEQ ID NOs: 115, 116, e 117, respectivamente; ou

xxx) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada compreendendo SEQ ID NOs: 108, 109, 110, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve compreendendo SEQ ID NOs: 118, 119 e 120, respectivamente; ou

xxxi) uma cadeia pesada variável pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 111, e uma cadeia leve variável pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 121; ou

xxxii) uma cadeia pesada pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 113, e uma cadeia leve pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 123; ou

xxxiii) uma cadeia pesada pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 125, e uma cadeia leve pelo menos

90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 123; ou

xxxiv) uma cadeia pesada pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 127, e uma cadeia leve pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 123; ou

xxxv) uma cadeia pesada pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 129, e uma cadeia leve pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 123.

[009] Em algumas modalidades, o anticorpo anti-CD39 compreende os recursos estruturais descritos no parágrafo [0008] e um ou mais dos recursos funcionais descritos no parágrafo [0007]. Em algumas modalidades, o anticorpo anti-CD39, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, se liga substancialmente ao mesmo epítopo que um anticorpo de referência descrito nos parágrafos [0007] ou [0008].

[0010] Em algumas modalidades, a divulgação fornece um anticorpo anti-CD39, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, compreendendo ou consistindo em sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada compreendendo SEQ ID NOs: 27, 28 e 29, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve compreendendo SEQ ID NOs: 37, 38 e 39, respectivamente.

[0011] Em algumas modalidades, a divulgação fornece um anticorpo anti-CD39, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, compreendendo ou consistindo nas sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada compreendendo SEQ ID NOs: 30, 31 e 32, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve

compreendendo SEQ ID NOs: 40, 41 e 42, respectivamente.

[0012] Em algumas modalidades, a divulgação fornece um anticorpo anti-CD39, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, compreendendo ou consistindo em uma cadeia pesada variável pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 33 e uma cadeia leve variável pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 43.

[0013] Em algumas modalidades, a divulgação fornece um anticorpo anti-CD39, ou sua porção de ligação ao antígeno, compreendendo ou consistindo em uma cadeia pesada de pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97 %, 98%, 99% ou 100% idêntico à sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 49 e uma cadeia leve de pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96% , 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 45.

[0014] Em algumas modalidades, a divulgação fornece um anticorpo anti-CD39 que se liga a e antagoniza CD39 humano compreendendo ou consistindo em sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada compreendendo SEQ ID NOs: 27, 28 e 29, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve compreendendo SEQ ID NOs: 37, 38 e 39, respectivamente; ou sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada compreendendo SEQ ID NOs: 4, 5 e 6, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve compreendendo SEQ ID NOs: 15, 16 e 17, respectivamente, em que o anticorpo:

a. aumenta a proliferação de um linfócito, opcionalmente em que o linfócito é um linfócito infiltrador de tumor ou célula T CD4 + e/ou

b. intensifica a expressão de um ou mais marcadores de ativação de células dendríticas, opcionalmente em que o marcador de ativação de células dendríticas é CD86, HLA-DR ou CD86 e HLA-DR; e/ou

c. intensifica a secreção de uma ou mais citocinas de células dendríticas, opcionalmente em que a citocina é IL-16, IL-12/IL-23p40, VEGFA ou qualquer combinação das mesmas; e/ou

d. em que o antagonismo do CD39 humano ocorre em um microambiente tumoral, opcionalmente em que o antagonismo é não competitivo e/ou alostérico; e/ou

e. em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo reage de maneira cruzada com o CD39 cynomolgus.

[0015] Em algumas modalidades, o anticorpo anti-CD39, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, compreende um anticorpo IgG1, um IgG2, um IgG3, um IgG4, um IgM, um IgA1, um IgA2, um IgD ou um IgE.

[0016] Em algumas modalidades, o anticorpo anti-CD39, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, compreende um anticorpo IgG1 ou IgG4 do tipo selvagem ou mutante. Em algumas modalidades, o anticorpo anti-CD39, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, compreende uma região constante de cadeia pesada de IgG4 mutante, em que a mutação i) reduz a capacidade da IgG4 de formar meias moléculas; e/ou ii) minimiza a ligação aos receptores Fc.

[0017] Em algumas modalidades, o anticorpo anti-CD39, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, compreende uma região constante de cadeia pesada de IgG4 mutante compreendendo uma mutação S228P. Em algumas modalidades, o anticorpo anti-CD39, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, compreende uma região constante de cadeia pesada de IgG4 mutante compreendendo mutações S228P e L235E.

[0018] Em algumas modalidades, o anticorpo anti-CD39, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, compreende a sequência CDR3 de cadeia pesada estabelecida na SEQ ID NO: 3. Em algumas modalidades, o anticorpo anti-CD39, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, se liga substancialmente ao mesmo epítopo que um anticorpo de referência ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, compreendendo a sequência CDR3 de cadeia pesada estabelecida na SEQ ID NO: 3.

[0019] Foi anteriormente descrito que o CD39 é aumentado em indivíduos resistentes à terapia anti-PD1/anti-PD-L1. *Ver, por exemplo*, Hotson/Luke et al., Oral presentation at Society for Immunotherapy of Cancer (SITC) 32nd Annual Meeting (2017) [retrieved on 2019-03-13]. Obtido da Internet: <URL: https://www.corvuspharma.com/file.cfm/23/docs/SITC_2017_Slides.pdf >. Em algumas modalidades, é fornecido um método de tratamento de seres humanos que são resistentes à terapia anti-PD1 ou anti-PD-L1, compreendendo administrar qualquer um dos anticorpos anti-CD39 aqui descritos. Os indivíduos que são resistentes ao anti-PD1 ou anti-PD-L1 incluem indivíduos cujo benefício da terapia anti-PD1 ou anti-PD-L1 permaneceu diminuído em pelo menos um desvio padrão em comparação com um controle não resistente por mais de três meses.

[0020] Em um aspecto, a divulgação fornece uma porção de ligação de anticorpo ou antígeno que se liga a CD39 recombinante humano e/ou CD39 humano ligado à membrana. Em um aspecto, a divulgação fornece um anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo que se liga a CD39 humano com uma constante de dissociação (K_D) de equilíbrio inferior a 10 nM. Em um aspecto, a divulgação fornece uma porção de ligação de anticorpo ou antígeno que inibe ou reduz uma atividade enzimática do CD39 humano. Em um aspecto, a divulgação fornece um anticorpo ou porção de ligação

ao antígeno do mesmo que se liga a CD39 humano recombinante e/ou CD39 humano ligado à membrana com uma constante de dissociação (K_D) de equilíbrio inferior a 10 nM e inibe ou reduz a atividade enzimática de CD39 humano. Em alguns aspectos, a atividade enzimática do CD39 humano é a hidrólise de eATP ou eADP.

[0021] Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação inibe ou reduz a conversão de eATP ou eADP em eAMP. Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo se liga a CD39 humano recombinante e/ou CD39 humano ligado à membrana com uma constante de dissociação (K_D) de equilíbrio inferior a 10 nM e inibe ou reduz a conversão de eATP ou eADP em eAMP.

[0022] Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação aumenta ou melhora um nível de eATP. Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo se liga a CD39 humano recombinante e/ou CD39 humano ligado à membrana com uma constante de dissociação (K_D) de equilíbrio inferior a 10 nM e aumenta ou intensifica um nível de eATP.

[0023] Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação diminui ou reduz um nível de adenosina extracelular. Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo se liga a CD39 humano recombinante e/ou CD39 humano ligado à membrana com uma constante de dissociação (K_D) de equilíbrio inferior a 10 nM e diminui ou reduz um nível de adenosina extracelular. Os métodos para avaliar os níveis de adenosina são conhecidos na técnica, por exemplo, em Blay et al., 1997, Cancer Research 57:2602-2605 at Materials and Methods, aqui incorporado por referência na sua totalidade.

[0024] Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao

antígeno do mesmo da divulgação mantém, aumenta ou intensifica um nível imunoestimulatório de eATP. Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo se liga a CD39 humano recombinante e/ou CD39 humano ligado à membrana com uma constante de dissociação (K_D) de equilíbrio inferior a 10 nM e mantém, aumenta ou intensifica um nível imunoestimulatório de eATP.

[0025] Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação aumenta a proliferação de um linfócito. Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo se liga a CD39 humano recombinante e/ou CD39 humano ligado à membrana com uma constante de dissociação (K_D) de equilíbrio inferior a 10 nM e aumenta a proliferação de um linfócito. Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo se liga a CD39 humano recombinante e/ou CD39 humano ligado à membrana com uma constante de dissociação (K_D) de equilíbrio inferior a 10 nM, inibe ou reduz a atividade enzimática do CD39 humano e aumenta a proliferação de um linfócito. Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo se liga a CD39 humano recombinante e/ou CD39 humano ligado à membrana com uma constante de dissociação (K_D) de equilíbrio inferior a 10 nM, mantém, aumenta ou intensifica um nível de eATP e aumenta a proliferação de um linfócito. Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo se liga a CD39 humano recombinante e/ou CD39 humano ligado à membrana com uma constante de dissociação (K_D) de equilíbrio inferior a 10 nM, mantém, aumenta ou intensifica um nível de eATP e/ou diminui ou reduz um nível de adenosina e aumenta a proliferação de um linfócito. Em alguns aspectos, o linfócito é um linfócito infiltrador de tumor. Em alguns aspectos, o linfócito é a célula T. Em alguns aspectos, a célula T é uma célula T CD4+.

[0026] Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação aumenta ou intensifica a expressão de um ou mais marcadores de ativação de células dendríticas e/ou aumenta ou intensifica a secreção de uma ou mais citocinas das células dendríticas. Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo se liga a CD39 humano recombinante e/ou CD39 humano ligado à membrana com uma constante de dissociação (K_D) de equilíbrio inferior a 10 nM e aumenta ou intensifica a expressão de um ou mais marcadores de ativação de células dendríticas e/ou aumenta ou intensifica a secreção de uma ou mais citocinas de células dendríticas. Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo se liga a CD39 humano recombinante e/ou CD39 humano ligado à membrana com uma constante de dissociação (K_D) de equilíbrio inferior a 10 nM, inibe ou reduz a atividade enzimática do CD39 humano e aumenta ou intensifica a expressão de um ou mais marcadores de ativação de células dendríticas e/ou aumenta ou melhora a secreção de uma ou mais citocinas das células dendríticas. Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo se liga a CD39 humano recombinante e/ou CD39 humano ligado à membrana com uma constante de dissociação (K_D) de equilíbrio inferior a 10 nM mantém, aumenta ou intensifica um nível de eATP, e aumenta ou intensifica a expressão de um ou mais marcadores de ativação de células dendríticas e/ou aumenta ou intensifica a secreção de uma ou mais citocinas de células dendríticas. Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo se liga a CD39 humano recombinante e/ou CD39 humano ligado à membrana com uma constante de dissociação (K_D) de equilíbrio inferior a 10 nM, mantém, aumenta ou intensifica um nível de eATP e/ou diminui ou reduz um nível de adenosina e aumenta ou intensifica a expressão de um ou

mais marcadores de ativação de células dendríticas e/ou aumenta ou intensifica a secreção de uma ou mais citocinas de células dendríticas. Em alguns aspectos, os um ou mais marcadores de ativação de células dendríticas é CD86, HLA-DR ou uma combinação dos mesmos. Em alguns aspectos, a uma ou mais citocinas é IL-16, IL-12/IL-23p40, VEGFA ou qualquer combinação das mesmas.

[0027] Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação causa antagonismo do CD39 humano em um microambiente tumoral de um tecido.

[0028] Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação reage com o CD39 cynomolgus e/ou CD39 de camundongo.

[0029] Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação é selecionada de um anticorpo IgG1, IgG2 e IgG3, IgG4 e IgM e IgA1 e IgA2 e IgD e IgE. Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação é um anticorpo IgG1 ou um anticorpo IgG4. Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação compreende uma região constante de cadeia pesada de IgG1 do tipo selvagem. Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação compreende uma região constante de cadeia pesada de IgG4 do tipo selvagem. Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação compreende um domínio Fc compreendendo pelo menos uma mutação. Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação compreende uma região constante de cadeia pesada de IgG1 mutante. Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação compreende uma região constante de cadeia pesada de IgG4 mutante. Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao

antígeno do mesmo da divulgação compreende uma região constante de cadeia pesada de IgG4 mutante, em que a região constante de cadeia pesada de IgG4 mutante compreende qualquer uma das substituições S228P, L235E, L235A ou uma combinação dos mesmos, de acordo com a numeração da UE. Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação compreende uma região constante de cadeia pesada de IgG4 mutante, em que a região constante de cadeia pesada de IgG4 mutante compreende uma substituição de S228P. Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação compreende uma região constante de cadeia pesada de IgG4 mutante, em que a região constante de cadeia pesada de IgG4 mutante compreende substituições S228P e L235E. Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação compreende uma região constante de cadeia pesada de IgG4 mutante, em que a região constante de cadeia pesada de IgG4 mutante compreende uma substituição S228P e L235A.

[0030] Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação compreende a sequência CDR3 de cadeia pesada estabelecida na SEQ ID NO: 3. Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga substancialmente ao mesmo epítopo que um anticorpo de referência ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, compreendendo a sequência CDR3 de cadeia pesada estabelecida na SEQ ID NO: 3. Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a pelo menos um dos resíduos de aminoácidos ligados por um anticorpo de referência ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, compreendendo a sequência CDR3 de cadeia pesada estabelecida nas SEQ ID NOs: 3. Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do

mesmo da divulgação, em que uma mutação do epítopo ligado ao anticorpo inibe, reduz ou bloqueia a ligação ao anticorpo e a um anticorpo de referência ou uma porção de ligação ao antígeno do mesmo compreendendo a sequência CDR3 de cadeia pesada estabelecida nas SEQ ID NOs: 3.

[0031] Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno da divulgação se liga substancialmente ao mesmo epítopo que um anticorpo de referência ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, compreendendo as sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 27, 28 e 29, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 37, 38 e 39, respectivamente. Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a pelo menos um dos resíduos de aminoácidos ligados por um anticorpo de referência ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, compreendendo as sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 27, 28 e 29, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 37, 38 e 39, respectivamente. Em algumas modalidades, uma mutação do epítopo ligado ao anticorpo ou porção de ligação ao antígeno da divulgação inibe, reduz ou bloqueia a ligação ao anticorpo e a um anticorpo de referência ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreendendo sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 27, 28 e 29, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 37, 38 e 39, respectivamente.

[0032] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga substancialmente ao mesmo epítopo que um anticorpo de referência ou porção de ligação

ao antígeno do mesmo, compreendendo as sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 30, 31 e 32, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 40, 41 e 42, respectivamente.

[0033] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a pelo menos um dos resíduos de aminoácidos ligados por um anticorpo de referência ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, compreendendo as sequências CDR1, CDR2 e CDR3 da cadeia pesada apresentadas nas SEQ ID NOs: 30, 31 e 32, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 da cadeia leve apresentadas nas SEQ ID NOs: 40, 41 e 42, respectivamente.

[0034] Em algumas modalidades, uma mutação do epítopo ligado ao anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação inibe, reduz ou bloqueia a ligação ao anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo e a um anticorpo de referência ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreendendo sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 31, 31 e 32, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 40, 41 e 42, respectivamente.

[0035] Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende CDRs das cadeias pesada e leve selecionadas do grupo que consiste em:

(i) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 27, 28 e 29, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 37, 38 e 39, respectivamente;

(ii) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada

estabelecidas nas SEQ ID NOs: 1, 2 e 3, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 11, 12 e 13, respectivamente;

(iii) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 53, 54 e 55, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 63, 64 e 65, respectivamente;

(iv) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 79, 80 e 81, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 89, 90 e 91, respectivamente; e

(v) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 105, 106 e 107, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 115, 116 e 117, respectivamente.

[0036] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende CDRs de cadeia pesada e leve, em que as sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada são estabelecidas nas SEQ ID NOs: 27, 28 e 29, respectivamente, e as sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve são estabelecidas nas SEQ ID NOs: 37, 38 e 39, respectivamente.

[0037] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende CDRs das cadeias pesada e leve selecionadas do grupo que consiste em:

(i) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 30, 31, e 32, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 40, 41 e 42, respectivamente;

(ii) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 4, 5, e 6, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 14, 15 e 16, respectivamente;

(iii) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 56, 57 e 58, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 66, 67 e 68, respectivamente;

(iv) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 82, 83, e 84, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 92, 93 e 94, respectivamente; e

(v) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 108, 109 e 110, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 118, 119 e 120, respectivamente.

[0038] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende CDRs de cadeia pesada e leve, em que as sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada são estabelecidas nas SEQ ID NOs: 30, 31 e 32, respectivamente, e as sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve são estabelecidas nas SEQ ID NOs: 40, 41 e 42, respectivamente.

[0039] Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende regiões variáveis de cadeia pesada e leve, em que a região variável de cadeia pesada compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NOs: 33, 7, 59, 85 e 111; e em que a região variável de cadeia leve compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo

que consiste nas SEQ ID NOs: 43, 17, 69, 95 e 121.

[0040] Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano antagonista e compreende regiões variáveis de cadeia pesada e leve compreendendo sequências de aminoácidos selecionadas do grupo que consiste em:

(i) SEQ ID NO: 33 e 43, respectivamente;

(ii) SEQ ID NO: 7 e 17, respectivamente;

(iii) SEQ ID NO: 59 e 69, respectivamente;

(iv) SEQ ID NO: 85 e 95, respectivamente; e

(v) SEQ ID NO: 111 e 121, respectivamente.

[0041] Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende regiões variáveis de cadeia pesada e leve compreendendo sequências de aminoácidos estabelecidas em SEQ ID NO: 33 e 43, respectivamente.

[0042] Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende regiões variáveis de cadeia pesada e leve, em que a região variável de cadeia pesada compreende uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, pelo menos 99% idêntica à sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 33, 7, 59, 85 e 111; e em que a região variável de cadeia leve compreende uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, pelo menos 99% idêntica à sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NOs: 43, 17, 69, 95 e 121.

[0043] Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a um CD39 humano

antagonista e compreende regiões variáveis de cadeia pesada e leve compreendendo sequências de aminoácidos pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98% , pelo menos 99% idênticas às sequências de aminoácidos selecionadas do grupo que consiste em:

(i) SEQ ID NO: 33 e 43, respectivamente;

(ii) SEQ ID NO: 7 e 17, respectivamente;

(iii) SEQ ID NO: 59 e 69, respectivamente;

(iv) SEQ ID NO: 85 e 95, respectivamente; e

(v) SEQ ID NO: 111 e 121, respectivamente.

[0044] Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende regiões variáveis de cadeia pesada e leve compreendendo sequências de aminoácidos pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, pelo menos 99% idênticas às sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID NO: 33 e 43, respectivamente.

[0045] Em algumas modalidades, a porção de ligação ao anticorpo ou antígeno da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve, em que a cadeia pesada compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 35 9, 61, 87 e 113; e em que a cadeia leve compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 45, 19, 71, 97 e 123.

[0046] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve, em que a cadeia pesada compreende uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, pelo menos 99% idêntica à sequência de aminoácidos

selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NOs: 35, 9, 61, 87 e 113; e em que a cadeia leve compreende uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, pelo menos 99% à sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NOs : 45, 19, 71, 97 e 123.

[0047] Em algumas modalidades, a porção de ligação ao anticorpo ou antígeno da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve, em que a cadeia pesada compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 47, 21, 73, 99, e 125; e em que a cadeia leve compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 45, 19, 71, 97 e 123.

[0048] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve, em que a cadeia pesada compreende uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, pelo menos 99% idêntica à sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NOs: 47, 21, 73, 99 e 125; e em que a cadeia leve compreende uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, pelo menos 99% idêntica à sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NOs : 45, 19, 71, 97 e 123.

[0049] Em algumas modalidades, a porção de ligação ao anticorpo ou antígeno da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve, em que a cadeia pesada compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 49, 23, 75, 101 e 127; e em que

a cadeia leve compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 45, 19, 71, 97 e 123.

[0050] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve, em que a cadeia pesada compreende uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, pelo menos 99% idêntica à sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NOs: 49, 23, 75, 101 e 127; e em que a cadeia leve compreende uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, pelo menos 99% idêntica à sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NOs : 45, 19, 71, 97 e 123.

[0051] Em algumas modalidades, a porção de ligação ao anticorpo ou antígeno da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve, em que a cadeia pesada compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 51, 25, 77, 103 e 129; e em que a cadeia leve compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 45, 19, 71, 97 e 123.

[0052] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve, em que a cadeia pesada compreende uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, pelo menos 99% idêntica à sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NOs: 51, 25, 77, 103 e

129; e em que a cadeia leve compreende uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, pelo menos 99% idêntica à sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NOs : 45, 19, 71, 97 e 123.

[0053] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências de aminoácidos selecionadas do grupo que consiste em:

(i) SEQ ID NO: 35 e 45, respectivamente;

(ii) SEQ ID NO: 9 e 19, respectivamente;

(iii) SEQ ID NO: 61 e 71, respectivamente;

(iv) SEQ ID NO: 87 e 97, respectivamente; e

(v) SEQ ID NO: 113 e 123, respectivamente.

[0054] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza um CD39 humano antagonista e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências de aminoácidos pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98% , pelo menos 99% idênticas às sequências de aminoácidos selecionadas do grupo que consiste em:

(i) SEQ ID NO: 35 e 45, respectivamente;

(ii) SEQ ID NO: 9 e 19, respectivamente;

(iii) SEQ ID NO: 61 e 71, respectivamente;

(iv) SEQ ID NO: 87 e 97, respectivamente; e

(v) SEQ ID NO: 113 e 123, respectivamente.

[0055] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve

compreendendo sequências de aminoácidos selecionadas do grupo que consiste em:

(i) SEQ ID NO: 47 e 45, respectivamente;

(ii) SEQ ID NO: 21 e 19, respectivamente;

(iii) SEQ ID NO: 73 e 71, respectivamente;

(iv) SEQ ID NO: 99 e 97, respectivamente; e

(v) SEQ ID NO: 125 e 123, respectivamente.

[0056] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza um CD39 humano antagonista e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências de aminoácidos pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98% , pelo menos 99% idênticas às sequências de aminoácidos selecionadas do grupo que consiste em:

(i) SEQ ID NO: 47 e 45, respectivamente;

(ii) SEQ ID NO: 21 e 19, respectivamente;

(iii) SEQ ID NO: 73 e 71, respectivamente;

(iv) SEQ ID NO: 99 e 97, respectivamente; e

(v) SEQ ID NO: 125 e 123, respectivamente.

[0057] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências de aminoácidos selecionadas do grupo que consiste em:

(i) SEQ ID NO: 49 e 45, respectivamente;

(ii) SEQ ID NO: 23 e 19, respectivamente;

(iii) SEQ ID NO: 75 e 71, respectivamente;

(iv) SEQ ID NO: 101 e 97, respectivamente; e

(v) SEQ ID NO: 127 e 123, respectivamente.

[0058] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação

ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza um CD39 humano antagonista e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências de aminoácidos pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98% , pelo menos 99% idênticas às sequências de aminoácidos selecionadas do grupo que consiste em:

(i) SEQ ID NO: 49 e 45, respectivamente;

(ii) SEQ ID NO: 23 e 19, respectivamente;

(iii) SEQ ID NO: 75 e 71, respectivamente;

(iv) SEQ ID NO: 101 e 97, respectivamente; e

(v) SEQ ID NO: 127 e 123, respectivamente.

[0059] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências de aminoácidos selecionadas do grupo que consiste em:

(i) SEQ ID NO: 51 e 45, respectivamente;

(ii) SEQ ID NO: 25 e 19, respectivamente;

(iii) SEQ ID NO: 77 e 71, respectivamente;

(iv) SEQ ID NO: 103 e 97, respectivamente; e

(v) SEQ ID NO: 129 e 123, respectivamente.

[0060] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza um CD39 humano antagonista e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências de aminoácidos pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98% , pelo menos 99% idênticas às sequências de aminoácidos selecionadas do grupo que consiste em:

(i) SEQ ID NO: 51 e 45, respectivamente;

(ii) SEQ ID NO: 25 e 19, respectivamente;

(iii) SEQ ID NO: 77 e 71, respectivamente;

(iv) SEQ ID NO: 103 e 97, respectivamente; e

(v) SEQ ID NO: 129 e 123, respectivamente.

[0061] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma leve compreendendo sequências de aminoácidos estabelecidas em SEQ ID NO: 35 e 45, respectivamente.

[0062] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências de aminoácidos pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, pelo menos 99% idênticas às sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID NO: 35 e 45, respectivamente.

[0063] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma leve compreendendo sequências de aminoácidos estabelecidas em SEQ ID NO: 47 e 45, respectivamente;, respectivamente.

[0064] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências de aminoácidos pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, pelo menos 99% idênticas às sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID NO: 47 e 45, respectivamente.

[0065] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma leve

compreendendo sequências de aminoácidos estabelecidas em SEQ ID NO: 49 e 45, respectivamente;, respectivamente.

[0066] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências de aminoácidos pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, pelo menos 99% idênticas às sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID NO: 49 e 45, respectivamente.

[0067] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma leve compreendendo sequências de aminoácidos estabelecidas em SEQ ID NO: 51 e 45, respectivamente;, respectivamente.

[0068] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências de aminoácidos pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, pelo menos 99% idênticas às sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID NO: 51 e 45, respectivamente.

[0069] Em alguns aspectos, a divulgação fornece uma composição farmacêutica compreendendo um anticorpo anti-CD39 isolado ou uma porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação e um transportador farmaceuticamente aceitável.

[0070] Em alguns aspectos, a divulgação fornece um ácido nucleico compreendendo uma sequência de nucleotídeos que codifica a cadeia leve, a cadeia pesada ou as cadeias leve e pesada do anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, da divulgação. Em alguns aspectos, a divulgação fornece um vetor de

expressão compreendendo o ácido nucleico da divulgação. Em alguns aspectos, a divulgação fornece uma célula transformada com um vetor de expressão da divulgação.

[0071] Em alguns aspectos, a divulgação fornece um método para a produção de um anticorpo que se liga a CD39 humano, ou a uma porção de ligação ao antígeno, o método compreendendo manter uma célula de acordo com a divulgação sob condições que permitem a expressão do anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo. Em alguns aspectos, o método compreende ainda obter o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo.

[0072] Em algumas modalidades, a divulgação fornece um método para estimular uma resposta imune em um indivíduo, o método compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de um anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, que se liga a e antagoniza CD39 humano, fornecido pelo divulgação ou uma composição farmacêutica compreendendo o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo e um transportador farmaceuticamente aceitável.

[0073] Em algumas modalidades, a divulgação fornece um método de tratamento de um câncer em um indivíduo, o método compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de um anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, que se liga a e antagoniza CD39, fornecido pela divulgação, ou uma composição farmacêutica compreendendo o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo e um transportador farmaceuticamente aceitável.

[0074] Em algumas modalidades, a divulgação fornece um método de tratamento de um câncer em um indivíduo, o método compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de um anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, que se

liga a e antagoniza CD39 humano, fornecido pela divulgação, ou uma composição farmacêutica compreendendo o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, e um transportador farmaceuticamente aceitável, em que o anticorpo, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, ou composição farmacêutica inibe ou reduz a atividade enzimática do CD39 humano em um microambiente tumoral, tratando desse modo o câncer.

[0075] Em algumas modalidades, a divulgação fornece um método de tratamento de um câncer em um indivíduo, o método compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de um anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, que se liga a e antagoniza CD39 humano, fornecido pela divulgação, ou uma composição farmacêutica compreendendo o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, e um transportador farmaceuticamente aceitável, em que o anticorpo, ou porção de ligação ao antígeno, ou a composição farmacêutica inibe ou reduz a atividade enzimática do CD39 humano, em que a inibição ou redução da atividade enzimática de CD39 inibe ou reduz a conversão de adenosina trifosfato extracelular (eATP) ou adenosina difosfato extracelular (eADP) em adenosina monofosfato extracelular (AMP) em um microambiente tumoral, tratando desse modo o câncer.

[0076] Em algumas modalidades, a divulgação fornece um método de tratamento de um câncer em um indivíduo, o método compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de um anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno, que se liga a e antagoniza CD39, fornecido pela divulgação, ou uma composição farmacêutica compreendendo o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno, e um transportador farmaceuticamente aceitável, em que o anticorpo, ou porção de ligação ao antígeno, ou a composição farmacêutica inibe ou reduz a atividade enzimática do CD39 humano,

em que a inibição ou redução da atividade enzimática de CD39 aumenta ou intensifica um nível de adenosina trifosfato extracelular (eATP) em um microambiente tumoral, tratando desse modo o câncer.

[0077] Em algumas modalidades, o anticorpo anti-CD39 é monoclonal.

[0078] Em algumas modalidades, a divulgação fornece um método de tratamento de um câncer em um indivíduo, o método compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de um anticorpo anti-CD39 isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, que se liga a e antagoniza CD39 humano, fornecido pela divulgação, ou uma composição farmacêutica compreendendo o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, e um transportador farmaceuticamente aceitável, em que o anticorpo, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, ou a composição farmacêutica inibe ou reduz a atividade enzimática do CD39 humano, em que a inibição ou redução da atividade enzimática de CD39 diminui ou reduz um nível de adenosina extracelular em um microambiente tumoral, tratando desse modo o câncer.

[0079] Em algumas modalidades, a divulgação fornece um método de tratamento de um câncer em um indivíduo, o método compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de um anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno, que se liga a e antagoniza CD39 humano, fornecido pela divulgação, ou uma composição farmacêutica compreendendo o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno, e um transportador farmaceuticamente aceitável, em que o anticorpo, ou porção de ligação ao antígeno, ou a composição farmacêutica inibe ou reduz a atividade enzimática do CD39 humano, em que a inibição ou redução da atividade enzimática de CD39 humano aumenta ou intensifica um nível de adenosina trifosfato extracelular (eATP) e diminui ou reduz o nível de adenosina

extracelular em um microambiente tumoral, tratando desse modo o câncer.

[0080] Em algumas modalidades, a divulgação fornece um método de tratamento de um câncer em um indivíduo, o método compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de um anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno, que se liga a e antagoniza CD39 humano, fornecido pela divulgação, ou uma composição farmacêutica compreendendo o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno, e um transportador farmaceuticamente aceitável, em que o anticorpo, ou porção de ligação ao antígeno, ou a composição farmacêutica inibe ou reduz a atividade enzimática de CD39 humano, em que a inibição ou redução da atividade enzimática de CD39 humano mantém, aumenta ou intensifica um nível imunoestimulatório de adenosina trifosfato extracelular (eATP) em um microambiente tumoral, tratando desse modo o câncer.

[0081] Em algumas modalidades, a divulgação fornece um método de tratamento de um câncer em um indivíduo, o método compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de um anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, que se liga a e antagoniza CD39 humano, fornecido pela divulgação, ou uma composição farmacêutica compreendendo o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, e um transportador farmaceuticamente aceitável, em que o anticorpo, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, ou a composição farmacêutica inibe ou reduz a atividade enzimática do CD39 humano, em que a inibição ou redução da atividade enzimática do CD39 humano aumenta ou intensifica a proliferação de um linfócito no microambiente tumoral, tratando assim o câncer.

[0082] Em algumas modalidades, a divulgação fornece um método de tratamento de um câncer em um indivíduo, o método

compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de um anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, que se liga a e antagoniza CD39 humano, fornecido pela divulgação, ou uma composição farmacêutica compreendendo o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, e um transportador farmaceuticamente aceitável, em que o anticorpo, ou a porção de ligação ao antígeno do mesmo, ou a composição farmacêutica inibe ou reduz a atividade enzimática do CD39 humano, em que a inibição ou redução da atividade enzimática do CD39 humano melhora a expressão de um ou mais marcadores de ativação de células dendríticas.

[0083] Em algumas modalidades, a divulgação fornece um método de tratamento de um câncer em um indivíduo, o método compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de um anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, que se liga a e antagoniza CD39 humano, fornecido pela divulgação, ou uma composição farmacêutica compreendendo o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, e um transportador farmaceuticamente aceitável, em que o anticorpo, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, ou a composição farmacêutica inibe ou reduz a atividade enzimática do CD39 humano, em que a inibição ou redução da atividade enzimática de CD39 humano intensifica a secreção de uma ou mais citocinas de células dendríticas.

[0084] Em algumas modalidades, a divulgação fornece métodos de tratamento de câncer em um indivíduo, em que o câncer é selecionado do grupo que consiste em: câncer de pulmão (por exemplo, câncer de pulmão de células não pequenas), câncer de ovário, câncer de rim, câncer de testículo, câncer de pâncreas, câncer de mama (por exemplo, câncer de mama triplo-negativo), melanoma, câncer de cabeça e pescoço (por exemplo, câncer de cabeça e pescoço escamoso), câncer colorretal, câncer de bexiga, câncer

endometrial, câncer de próstata, câncer de tireoide, carcinoma hepatocelular, câncer gástrico, câncer no cérebro, linfoma ou câncer renal (por exemplo, carcinoma de células renais).

[0085] Em alguns aspectos, a divulgação fornece uso de um anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, que se liga a e antagoniza CD39 humano, fornecido pela divulgação, ou uma composição farmacêutica compreendendo o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo e um transportador farmaceuticamente aceitável, ao estimular uma resposta imune em um indivíduo ou tratar câncer em um indivíduo, opcionalmente em combinação com um ou mais agentes ou procedimentos terapêuticos adicionais.

[0086] Em alguns aspectos, a divulgação fornece um kit compreendendo um anticorpo isolado, ou uma porção de ligação ao antígeno do mesmo, que se liga a e antagoniza CD39 humano, fornecido pela divulgação, ou uma composição farmacêutica compreendendo o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, e um transportador farmaceuticamente aceitável e instruções para uso na estimulação de uma resposta imune em um indivíduo ou no tratamento de câncer em um indivíduo, opcionalmente com instruções para uso em combinação com um ou mais agentes ou procedimentos terapêuticos adicionais.

[0087] Em algumas modalidades, a divulgação fornece um método de tratamento de câncer em um indivíduo, o método compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de um anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, que se liga a e antagoniza CD39, fornecido pela divulgação, em combinação com um ou mais agentes ou procedimentos terapêuticos adicionais. Em alguns aspectos, o segundo agente ou procedimento terapêutico é selecionado do grupo que consiste em: quimioterapia, terapia anticâncer direcionada, fármaco oncolítico, agente citotóxico, terapia

imunológica, citocina, procedimento cirúrgico, procedimento de radiação, ativador de uma molécula coestimulatória, inibidor de molécula inibitória, vacina ou imunoterapia celular ou uma combinação dos mesmos.

[0088] Em algumas modalidades, os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são um antagonista de PD-1, um antagonista de adenosina A2AR, um inibidor de CD73, um inibidor de CTLA-4, um inibidor de TIM-3, um inibidor de LAG-3, terapia celular de receptor de antígeno quimérico (CAR) ou uma combinação dos mesmos.

[0089] Em algumas modalidades, os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são uma combinação de um inibidor de CD73 e um antagonista de A2AR. Em algumas modalidades, os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são uma combinação de um antagonista de PD-1 e um antagonista de adenosina A2AR. Em algumas modalidades, os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são um antagonista de PD-1.

[0090] Em algumas modalidades, o antagonista de PD-1 é selecionado do grupo que consiste em: PDR001, nivolumabe, pembrolizumabe, pidilizumabe, MEDI0680, REGN2810, TSR-042, PF-06801591 e AMP-224. Em algumas modalidades, o antagonista de PD-1 é selecionado do grupo que consiste em: FAZ053, Atezolizumabe, Avelumabe, Durvalumabe e BMS-936559.

[0091] Em algumas modalidades, os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são um antagonista da adenosina A2AR. Em algumas modalidades, o antagonista da adenosina A2AR é selecionado do grupo que consiste em: NIR178, CPI-444, AZD4635, Vipadenant, GBV-2034 e AB928. Em algumas modalidades, o antagonista da adenosina A2AR é CPI-444.

[0092] Em algumas modalidades, os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são um inibidor de CD73. Em algumas

modalidades, o inibidor de CD73 é selecionado do grupo que consiste em: AB421, MEDI9447 e BMS-986179.

[0093] Em algumas modalidades, os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são um inibidor de CTLA-4. Em algumas modalidades, o inibidor de CTLA-4 é Ipilimumabe ou Tremelimumabe.

[0094] Em algumas modalidades, os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são um inibidor de TIM-3. Em algumas modalidades, o inibidor de TIM-3 é MGB453 ou TSR-022.

[0095] Em algumas modalidades, os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são um inibidor de LAG-3. Em algumas modalidades, o inibidor de LAG-3 é selecionado do grupo que consiste em LAG525, BMS-986016 e TSR-033.

[0096] Em algumas modalidades, os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são uma terapia celular do receptor de antígeno quimérico (CAR). Em algumas modalidades, a terapia celular CAR é CTL019.

[0097] Em algumas modalidades, os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são uma antraciclina. Em algumas modalidades, a antraciclina é selecionada de doxorrubicina, daunorrubicina, epirrubicina, idarrubicina e valrubicina. Em algumas modalidades, a antraciclina é doxorrubicina.

[0098] Em algumas modalidades, a divulgação fornece um método para detectar CD39 em uma amostra biológica ou em um indivíduo, compreendendo (i) contatar a amostra ou o indivíduo (e, opcionalmente, uma amostra ou indivíduo de referência) com qualquer anticorpo na Tabela 1 sob condições que permitem que ocorra a interação da molécula de anticorpo e CD39 e (ii) detectar a formação de um complexo entre a molécula de anticorpo e a amostra ou o indivíduo (e, opcionalmente, a amostra ou indivíduo de referência).

[0099] As seguintes modalidades são fornecidas e não são

limitativas:

[00100] Modalidade 1. Um anticorpo monoclonal isolado que se liga especificamente a e antagoniza CD39 humano, ou uma porção de ligação ao antígeno do mesmo, em que o anticorpo ou a porção de ligação ao antígeno do mesmo exibe pelo menos uma ou mais das seguintes propriedades:

(i) liga-se a CD39 humano recombinante e/ou a CD39 humano ligado à membrana;

(ii) liga-se a CD39 humano com uma constante de dissociação (K_D) de equilíbrio inferior a 10 nM;

(iii) inibe ou reduz uma atividade enzimática do CD39 humano;

(iv) inibe ou reduz a conversão por CD39 humano de adenosina trifosfato extracelular (eATP) ou adenosina difosfato extracelular (eADP) em adenosina monofosfato extracelular (eAMP);

(v) aumenta ou intensifica um nível de eATP;

(vi) diminui ou reduz um nível de adenosina extracelular;

(vii) mantém, aumenta ou intensifica um nível imunoestimulatório de eATP;

(viii) aumenta ou intensifica a proliferação de um linfócito;

(ix) aumenta ou intensifica a expressão de um ou mais marcadores de ativação de células dendríticas;

(x) aumenta ou intensifica a secreção de uma ou mais citocinas das células dendríticas;

(xi) aumenta ou intensifica a infiltração de macrófagos nos tumores;

(xii) aumenta ou intensifica a secreção de macrófagos que atraem quimiocinas;

(xiii) antagoniza CD39 humano em um microambiente tumoral de um tecido;

(xiv) reage de forma cruzada com o CD39 cynomolgus e/ou CD39 de camundongo; ou

(xv) uma combinação de qualquer um de (i) - (xiv).

[00101] Modalidade 2. O anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, da modalidade 1, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo se liga a CD39 recombinante humano e/ou CD39 humano ligado à membrana.

[00102] Modalidade 3. O anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, da modalidade 1 ou 2, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo se liga a CD39 humano com uma constante de dissociação de equilíbrio (KD) inferior a 10 nM.

[00103] Modalidade 4. O anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de qualquer uma das modalidades 1-3, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo inibe ou reduz uma atividade enzimática do CD39 humano.

[00104] Modalidade 5.O anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, da modalidade 4, em que a atividade enzimática do CD39 humano é a hidrólise de eATP ou eADP.

[00105] Modalidade 6. O anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de qualquer uma das modalidades 1-5, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo inibe ou reduz a conversão de eATP ou eADP em eAMP.

[00106] Modalidade 7. O anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de qualquer uma das modalidades 1-6, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo aumenta ou intensifica um nível de eATP.

[00107] Modalidade 8. O anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de qualquer uma das modalidades 1-7, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo

diminui ou reduz um nível de adenosina extracelular.

[00108] Modalidade 9. O anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de qualquer uma das modalidades 1-8, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo mantém, aumenta ou intensifica um nível imunoestimulatório de eATP.

[00109] Modalidade 10. O anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de qualquer uma das modalidades 1-9, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo aumenta a proliferação de um linfócito.

[00110] Modalidade 11. O anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, da modalidade 10, em que o linfócito é um linfócito infiltrador de tumor.

[00111] Modalidade 12. O anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, da modalidade 10 ou 11, em que o linfócito é uma célula T.

[00112] Modalidade 13. O anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, da modalidade 12, em que a célula T é uma célula T CD4+.

[00113] Modalidade 14. O anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de qualquer uma das modalidades 1-13, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo intensifica a expressão de um ou mais marcadores de ativação de células dendríticas.

[00114] Modalidade 15. O anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, da modalidade 14, em que os um ou mais marcadores de ativação de células dendríticas é CD86, HLA-DR ou uma combinação dos mesmos.

[00115] Modalidade 16. O anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de qualquer uma das modalidades 1-15, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo

intensifica a secreção de uma ou mais citocinas das células dendríticas.

[00116] Modalidade 17. O anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, da modalidade 16, em que a uma ou mais citocinas é IL-16, IL-12/IL-23p40, VEGFA ou qualquer combinação dos mesmos.

[00117] Modalidade 18. O anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de qualquer uma das modalidades 1-17, em que o antagonismo do CD39 humano ocorre em um microambiente tumoral de um tecido.

[00118] Modalidade 19. O anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de qualquer uma das modalidades 1-18, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo reage de maneira cruzada com o CD39 cynomolgus e/ou CD39 de camundongo.

[00119] Modalidade 20. O anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de qualquer uma das modalidades 1-19, em que o anticorpo é selecionado do grupo que consiste em uma IgG1, uma IgG2 e IgG3, uma IgG4 e IgM e IgA1 e IgA2, e IgD, e um anticorpo IgE.

[00120] Modalidade 21. O anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de acordo com a modalidade 20, em que o anticorpo é um anticorpo IgG1 ou um anticorpo IgG4.

[00121] Modalidade 22. O anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de acordo com a modalidade 20 ou 21, em que o anticorpo compreende uma região constante de cadeia pesada de IgG1 do tipo selvagem.

[00122] Modalidade 23. O anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de acordo com a modalidade 20 ou 21, em que o anticorpo compreende uma região constante de cadeia

pesada de IgG4 do tipo selvagem.

[00123] Modalidade 24. O anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de acordo com qualquer uma das modalidades 1-21, em que o anticorpo compreende um domínio Fc compreendendo pelo menos uma mutação.

[00124] Modalidade 25.O anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de acordo com a modalidade 24, em que o anticorpo compreende uma região constante de cadeia pesada de IgG1 mutante.

[00125] Modalidade 26. O anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de acordo com a modalidade 24, em que o anticorpo compreende uma região constante de cadeia pesada de IgG4 mutante.

[00126] Modalidade 27. O anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de acordo com a modalidade 26, em que a região constante de cadeia pesada de IgG4 mutante compreende qualquer uma das substituições S228P, L235E, L235A ou uma combinação dos mesmos, de acordo com a numeração da UE.

[00127] Modalidade 28. O anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de qualquer uma das modalidades 1-27, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreende a sequência CDR3 de cadeia pesada estabelecida na SEQ ID NO: 3.

[00128] Modalidade 29. O anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de qualquer uma das modalidades 1-28, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno se liga substancialmente ao mesmo epítopo que um anticorpo de referência ou porção de ligação ao antígeno, compreendendo a sequência CDR3 de cadeia pesada estabelecida na SEQ ID NO: 3.

[00129] Modalidade 30. O anticorpo monoclonal isolado, ou porção

de ligação ao antígeno do mesmo, de qualquer uma das modalidades 1-29, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo se liga a pelo menos um dos resíduos de aminoácidos ligados por um anticorpo de referência ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, compreendendo a sequência CDR3 de cadeia pesada estabelecida nas SEQ ID NOs: 3.

[00130] Modalidade 31. O anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de qualquer uma das modalidades 1-30, em que em que uma mutação do epítopo ligado ao anticorpo inibe, reduz ou bloqueia a ligação ao anticorpo e a um anticorpo de referência ou uma porção de ligação ao antígeno do mesmo compreendendo a sequência CDR3 de cadeia pesada estabelecida nas SEQ ID NOs: 3.

[00131] Modalidade 32. O anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de qualquer uma das modalidades 1-31, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo se liga substancialmente ao mesmo epítopo que um anticorpo de referência ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, compreendendo as sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 27, 28 e 29, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 37, 38 e 39, respectivamente.

[00132] Modalidade 33. O anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de qualquer uma das modalidades 1-32, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo se liga a pelo menos um dos resíduos de aminoácidos ligados por um anticorpo de referência ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, compreendendo as sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 27, 28 e 29, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas

SEQ ID NOs: 37, 38 e 39, respectivamente.

[00133] Modalidade 34. O anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de qualquer uma das modalidades 1-33, em que uma mutação do epítopo ligado pelo anticorpo inibe, reduz ou bloqueia a ligação ao anticorpo e a umo anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo de referência compreendendo as sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 27, 28 e 29, respectivamente, e as sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 37, 38 e 39, respectivamente.

[00134] Modalidade 35. O anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de qualquer uma das modalidades 1-31, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo se liga substancialmente ao mesmo epítopo que um anticorpo de referência ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, compreendendo as sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 30, 31 e 32, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 40, 41 e 42, respectivamente.

[00135] Modalidade 36. O anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de qualquer uma das modalidades 1-31 e 35, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo se liga a pelo menos um dos resíduos de aminoácidos ligados por um anticorpo de referência ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, compreendendo as sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 30, 31 e 32, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 40, 41 e 42, respectivamente.

[00136] Modalidade 37. O anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de qualquer uma das modalidades

1-31, 35 e 36, em que uma mutação do epítopo ligado pelo anticorpo inibe, reduz ou bloqueia a ligação ao anticorpo e a umo anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo de referência compreendendo as sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 30, 31 e 32, respectivamente, e as sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 40, 41 e 42, respectivamente.

[00137] Modalidade 38. Um anticorpo monoclonal isolado que se liga especificamente a e antagoniza CD39 humano ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreende CDRs das cadeias pesada e leve selecionadas do grupo que consiste em:

(i) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 27, 28 e 29, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 37, 38 e 39, respectivamente;

(ii) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 1, 2 e 3, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 11, 12 e 13, respectivamente;

(iii) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 53, 54 e 55, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 63, 64 e 65, respectivamente;

(iv) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 79, 80 e 81, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 89, 90 e 91, respectivamente; e

(v) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 105, 106 e 107, respectivamente, e

sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 115, 116 e 117, respectivamente.

[00138] Modalidade 39. Um anticorpo monoclonal isolado que se liga especificamente a e antagoniza CD39 humano ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, e que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreende CDRs das cadeias pesada e leve, em que as sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 27, 28 e 29, respectivamente, e as sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve são estabelecidas nas SEQ ID NOs: 37, 38 e 39, respectivamente.

[00139] Modalidade 40. Um anticorpo monoclonal isolado que se liga especificamente a e antagoniza CD39 humano ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreende CDRs das cadeias pesada e leve selecionadas do grupo que consiste em:

(i) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 30, 31, e 32, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 40, 41 e 42, respectivamente;

(ii) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 4, 5, e 6, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 14, 15 e 16, respectivamente;

(iii) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 56, 57 e 58, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 66, 67 e 68, respectivamente;

(iv) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 82, 83, e 84, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas

SEQ ID NOs: 92, 93 e 94, respectivamente; e

(v) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 108, 109 e 110, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 118, 119 e 120, respectivamente.

[00140] Modalidade 41. Um anticorpo monoclonal isolado que se liga especificamente a e antagoniza CD39 humano ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, e que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreende CDRs das cadeias pesada e leve, em que as sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 30, 31 e 32, respectivamente, e as sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve são estabelecidas nas SEQ ID NOs: 40, 41 e 42, respectivamente.

[00141] Modalidade 42. Um anticorpo monoclonal isolado que se liga especificamente a e antagoniza CD39 humano, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreende regiões variáveis de cadeia pesada e leve, em que a região variável de cadeia pesada compreende uma sequência de aminoácidos selecionado do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 33, 7, 59, 85 e 111; e em que a região variável de cadeia leve compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 43, 17, 69, 95 e 121.

[00142] Modalidade 43. Um anticorpo monoclonal isolado que se liga especificamente a e antagoniza CD39 humano, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreende regiões variáveis das cadeias leve e pesada compreendendo sequências de aminoácidos selecionadas do grupo que consiste em:

(i) SEQ ID NO: 33 e 43, respectivamente;

(ii) SEQ ID NO: 7 e 17, respectivamente;

(iii) SEQ ID NO: 59 e 69, respectivamente;

(iv) SEQ ID NO: 85 e 95, respectivamente; e

(v) SEQ ID NO: 111 e 121, respectivamente.

[00143] Modalidade 44. Um anticorpo monoclonal isolado que se liga especificamente a e antagoniza CD39 humano, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreende regiões variáveis das cadeias leve e pesada compreendendo sequências ácidas estabelecidas na SEQ ID NO: 33 e 43, respectivamente.

[00144] Modalidade 45. Um anticorpo monoclonal isolado que se liga especificamente a e antagoniza CD39 humano, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreende regiões variáveis de cadeia pesada e leve, em que a região variável de cadeia pesada compreende uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 90% idêntica à sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 33, 7, 59, 85 e 111; e em que a região variável de cadeia leve compreende uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 90% idêntica à sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 43, 17, 69, 95 e 121.

[00145] Modalidade 46. Um anticorpo monoclonal isolado que se liga especificamente a e antagoniza CD39 humano, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreende regiões variáveis das cadeias leve e pesada compreendendo sequências de aminoácidos pelo menos 90% idênticas às sequências de aminoácidos selecionadas do grupo que consiste em:

(i) SEQ ID NO: 33 e 43, respectivamente;

(ii) SEQ ID NO: 7 e 17, respectivamente;

(iii) SEQ ID NO: 59 e 69, respectivamente;

(iv) SEQ ID NO: 85 e 95, respectivamente; e

(v) SEQ ID NO: 111 e 121, respectivamente.

[00146] Modalidade 47. Um anticorpo monoclonal isolado que se liga especificamente a e antagoniza CD39 humano, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreende regiões variáveis das cadeias leve e pesada compreendendo sequências de aminoácidos pelo menos 90% idênticas às sequências de aminoácidos estabelecidas nas SEQ ID NO: 33 e 43, respectivamente.

[00147] Modalidade 48. Um anticorpo monoclonal isolado que se liga especificamente a e antagoniza CD39 humano, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve, em que a cadeia pesada compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 35 9, 61, 87 e 113; e em que a cadeia leve compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 45, 19, 71, 97 e 123.

[00148] Modalidade 49. Um anticorpo monoclonal isolado que se liga especificamente a e antagoniza CD39 humano, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreende uma cadeia pesada e uma leve, em que a cadeia pesada compreende uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 90% idêntica à sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 35, 9, 61, 87 e 113; e em que a cadeia leve compreende uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 90% idêntica à sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 45,

19, 71, 97 e 123.

[00149] Modalidade 50. Um anticorpo monoclonal isolado que se liga especificamente a e antagoniza CD39 humano, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve, em que a cadeia pesada compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 47, 21, 73, 99 e 125; e em que a cadeia leve compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 45, 19, 71, 97 e 123.

[00150] Modalidade 51. Um anticorpo monoclonal isolado que se liga especificamente a e antagoniza CD39 humano, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreende uma cadeia pesada e uma leve, em que a cadeia pesada compreende uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 90% idêntica à sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 47, 21, 73, 99 e 125; e em que a cadeia leve compreende uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 90% idêntica à sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 45, 19, 71, 97 e 123.

[00151] Modalidade 52. Um anticorpo monoclonal isolado que se liga especificamente a e antagoniza CD39 humano, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve, em que a cadeia pesada compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 49, 23, 75, 101 e 127; e em que a cadeia leve compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 45, 19, 71, 97 e 123.

[00152] Modalidade 53. Um anticorpo monoclonal isolado que se liga especificamente a e antagoniza CD39 humano, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreende uma cadeia pesada e uma leve, em que a cadeia pesada compreende uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 90% idêntica à sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 49, 23, 75, 101 e 127; e em que a cadeia leve compreende uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 90% idêntica à sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 45, 19, 71, 97 e 123.

[00153] Modalidade 54. Um anticorpo monoclonal isolado que se liga especificamente a e antagoniza CD39 humano, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve, em que a cadeia pesada compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 51, 25, 77, 103 e 129; e em que a cadeia leve compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 45, 19, 71, 97 e 123.

[00154] Modalidade 55. Um anticorpo monoclonal isolado que se liga especificamente a e antagoniza CD39 humano, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreende uma cadeia pesada e uma leve, em que a cadeia pesada compreende uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 90% idêntica à sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 51, 25, 77, 103 e 129; e em que a cadeia leve compreende uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 90% idêntica à sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 45,

19, 71, 97 e 123.

[00155] Modalidade 56. Um anticorpo monoclonal isolado que se liga especificamente a e antagoniza CD39 humano, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências de aminoácidos selecionadas do grupo que consiste em:

(i) SEQ ID NO: 35 e 45, respectivamente;

(ii) SEQ ID NO: 9 e 19, respectivamente;

(iii) SEQ ID NO: 61 e 71, respectivamente;

(iv) SEQ ID NO: 87 e 97, respectivamente; e

(v) SEQ ID NO: 113 e 123, respectivamente.

[00156] Modalidade 57. Um anticorpo monoclonal isolado que se liga especificamente a e antagoniza CD39 humano, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências de aminoácidos pelo menos 90% idênticas às sequências de aminoácidos selecionadas do grupo que consiste em:

(i) SEQ ID NO: 35 e 45, respectivamente;

(ii) SEQ ID NO: 9 e 19, respectivamente;

(iii) SEQ ID NO: 61 e 71, respectivamente;

(iv) SEQ ID NO: 87 e 97, respectivamente; e

(v) SEQ ID NO: 113 e 123, respectivamente.

[00157] Modalidade 58. Um anticorpo monoclonal isolado que se liga especificamente a e antagoniza CD39 humano, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências de aminoácidos selecionadas do grupo que consiste em:

(i) SEQ ID NO: 47 e 45, respectivamente;

(ii) SEQ ID NO: 21 e 19, respectivamente;

(iii) SEQ ID NO: 73 e 71, respectivamente;

(iv) SEQ ID NO: 99 e 97, respectivamente; e

(v) SEQ ID NO: 125 e 123, respectivamente.

[00158] Modalidade 59. Um anticorpo monoclonal isolado que se liga especificamente a e antagoniza CD39 humano, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências de aminoácidos pelo menos 90% idênticas às sequências de aminoácidos selecionadas do grupo que consiste em:

(i) SEQ ID NO: 47 e 45, respectivamente;

(ii) SEQ ID NO: 21 e 19, respectivamente;

(iii) SEQ ID NO: 73 e 71, respectivamente;

(iv) SEQ ID NO: 99 e 97, respectivamente; e

(v) SEQ ID NO: 125 e 123, respectivamente.

[00159] Modalidade 60. Um anticorpo monoclonal isolado que se liga especificamente a e antagoniza CD39 humano, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências de aminoácidos selecionadas do grupo que consiste em:

(i) SEQ ID NO: 49 e 45, respectivamente;

(ii) SEQ ID NO: 23 e 19, respectivamente;

(iii) SEQ ID NO: 75 e 71, respectivamente;

(iv) SEQ ID NO: 101 e 97, respectivamente; e

(v) SEQ ID NO: 127 e 123, respectivamente.

[00160] Modalidade 61. Um anticorpo monoclonal isolado que se liga especificamente a e antagoniza CD39 humano, ou porção de

ligação ao antígeno do mesmo, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências de aminoácidos pelo menos 90% idênticas às sequências de aminoácidos selecionadas do grupo que consiste em:

(i) SEQ ID NO: 49 e 45, respectivamente;

(ii) SEQ ID NO: 23 e 19, respectivamente;

(iii) SEQ ID NO: 75 e 71, respectivamente;

(iv) SEQ ID NO: 101 e 97, respectivamente; e

(v) SEQ ID NO: 127 e 123, respectivamente.

[00161] Modalidade 62. Um anticorpo monoclonal isolado que se liga especificamente a e antagoniza CD39 humano, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências de aminoácidos selecionadas do grupo que consiste em:

(i) SEQ ID NO: 51 e 45, respectivamente;

(ii) SEQ ID NO: 25 e 19, respectivamente;

(iii) SEQ ID NO: 77 e 71, respectivamente;

(iv) SEQ ID NO: 103 e 97, respectivamente; e

(v) SEQ ID NO: 129 e 123, respectivamente.

[00162] Modalidade 63. Um anticorpo monoclonal isolado que se liga especificamente a e antagoniza CD39 humano, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências de aminoácidos pelo menos 90% idênticas às sequências de aminoácidos selecionadas do grupo que consiste em:

(i) SEQ ID NO: 51 e 45, respectivamente;

(ii) SEQ ID NO: 25 e 19, respectivamente;

(iii) SEQ ID NO: 77 e 71, respectivamente;

(iv) SEQ ID NO: 103 e 97, respectivamente; e

(v) SEQ ID NO: 129 e 123, respectivamente.

[00163] Modalidade 64. Um anticorpo monoclonal isolado que se liga especificamente a e antagoniza CD39 humano, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências ácidas estabelecidas na SEQ ID NO: 35 e 45, respectivamente.

[00164] Modalidade 65. Um anticorpo monoclonal isolado que se liga especificamente a e antagoniza CD39 humano, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências de aminoácidos pelo menos 90% idênticas às sequências de aminoácidos estabelecidas nas SEQ ID NO: 35 e 45, respectivamente.

[00165] Modalidade 66. Um anticorpo monoclonal isolado que se liga especificamente a e antagoniza CD39 humano, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências ácidas estabelecidas na SEQ ID NO: 47 e 45, respectivamente;, respectivamente.

[00166] Modalidade 67. Um anticorpo monoclonal isolado que se liga especificamente a e antagoniza CD39 humano, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências de aminoácidos pelo menos 90% idênticas às sequências de aminoácidos estabelecidas nas SEQ ID NO: 47 e 45, respectivamente.

[00167] Modalidade 68. Um anticorpo monoclonal isolado que se

liga especificamente a e antagoniza CD39 humano, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências ácidas estabelecidas na SEQ ID NO: 49 e 45, respectivamente.

[00168] Modalidade 69. Um anticorpo monoclonal isolado que se liga especificamente a e antagoniza CD39 humano, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências de aminoácidos pelo menos 90% idênticas às sequências de aminoácidos estabelecidas nas SEQ ID NO: 49 e 45, respectivamente.

[00169] Modalidade 70. Um anticorpo monoclonal isolado que se liga especificamente a e antagoniza CD39 humano, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências ácidas estabelecidas na SEQ ID NO: 51 e 45, respectivamente.

[00170] Modalidade 71. Um anticorpo monoclonal isolado que se liga especificamente a e antagoniza CD39 humano, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências de aminoácidos pelo menos 90% idênticas às sequências de aminoácidos estabelecidas nas SEQ ID NO: 51 e 45, respectivamente.

[00171] Modalidade 72. Uma composição farmacêutica compreendendo um anticorpo monoclonal isolado ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de acordo com qualquer uma das modalidades anteriores, e um transportador farmaceuticamente aceitável.

[00172] Modalidade 73. Um ácido nucleico compreendendo uma sequência nucleotídica que codifica a cadeia leve, a cadeia pesada ou as cadeias leve e pesada do anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de acordo com qualquer uma das modalidades 1 a 71.

[00173] Modalidade 74. Um vetor de expressão compreendendo o ácido nucleico da modalidade 73.

[00174] Modalidade 75. Uma célula transformada com um vetor de expressão da modalidade 74.

[00175] Modalidade 76. Um método para produzir um anticorpo monoclonal que liga especificamente CD39 humano, ou a uma porção de ligação ao antígeno do mesmo, o método compreendendo manter uma célula de acordo com a modalidade 75, sob condições que permitem a expressão do anticorpo monoclonal ou porção de ligação ao antígeno do mesmo.

[00176] Modalidade 77. O método da modalidade 76, compreendendo ainda obter o anticorpo monoclonal ou porção de ligação ao antígeno do mesmo.

[00177] Modalidade 78. Um método para estimular uma resposta imune em um indivíduo, o método compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz do anticorpo monoclonal isolado de qualquer uma das modalidades 1-71 ou da composição farmacêutica da modalidade 72.

[00178] Modalidade 79. Um método de tratamento de um câncer em um indivíduo, o método compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz do anticorpo monoclonal isolado de qualquer uma das modalidades 1-71 ou da composição farmacêutica da modalidade 72.

[00179] Modalidade 80. Um método de tratamento de um câncer em um indivíduo, o método compreendendo administrar ao indivíduo

uma quantidade eficaz do anticorpo monoclonal isolado ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de qualquer uma das modalidades 1-71 ou a composição farmacêutica da modalidade 72, em que o anticorpo, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, ou composição farmacêutica inibe ou reduz a atividade enzimática do CD39 humano em um microambiente tumoral, tratando desse modo o câncer.

[00180] Modalidade 81. Um método de tratamento de um câncer em um indivíduo, o método compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz do anticorpo monoclonal isolado ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de qualquer uma das modalidades 1-71 ou a composição farmacêutica da modalidade 72, em que o anticorpo, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, ou a composição farmacêutica inibe ou reduz a atividade enzimática do CD39 humano, em que a inibição ou redução da atividade enzimática do CD39 humano inibe ou reduz a conversão de eATP ou eADP em AMP em um microambiente tumoral, tratando assim o câncer.

[00181] Modalidade 82. Um método de tratamento de um câncer em um indivíduo, o método compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz do anticorpo monoclonal isolado ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de qualquer uma das modalidades 1-71 ou a composição farmacêutica da modalidade 72, em que o anticorpo, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, ou composição farmacêutica inibe ou reduz a atividade enzimática do CD39 humano, em que a inibição ou redução da atividade enzimática de CD39 humano aumenta ou intensifica um nível de eATP em um microambiente tumoral, tratando assim o câncer.

[00182] Modalidade 83. Um método de tratamento de um câncer em um indivíduo, o método compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz do anticorpo monoclonal isolado ou porção de

ligação ao antígeno do mesmo, de qualquer uma das modalidades 1-71 ou a composição farmacêutica da modalidade 72, em que o anticorpo, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, ou a composição farmacêutica inibe ou reduz a atividade enzimática do CD39 humano, em que a inibição ou redução da atividade enzimática de CD39 humano diminui ou reduz um nível de adenosina extracelular em um microambiente tumoral, tratando assim o câncer.

[00183] Modalidade 84. Um método de tratamento de um câncer em um indivíduo, o método compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz do anticorpo monoclonal isolado ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de qualquer uma das modalidades 1-71 ou a composição farmacêutica da modalidade 72, em que o anticorpo, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, ou composição farmacêutica inibe ou reduz a atividade enzimática do CD39 humano, em que a inibição ou redução da atividade enzimática de CD39 humano aumenta ou intensifica um nível de eATP e diminui ou reduz um nível de adenosina extracelular em um microambiente tumoral, tratando assim o câncer.

[00184] Modalidade 85. Um método de tratamento de um câncer em um indivíduo, o método compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz do anticorpo monoclonal isolado ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de qualquer uma das modalidades 1-71 ou a composição farmacêutica da modalidade 72, em que o anticorpo, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, ou composição farmacêutica inibe ou reduz a atividade enzimática do CD39 humano, em que a inibição ou redução da atividade enzimática de CD39 humano mantém, aumenta ou intensifica um nível imunoestimulatório de eATP em um microambiente tumoral, tratando assim o câncer.

[00185] Modalidade 86. Um método de tratamento de um câncer

em um indivíduo, o método compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz do anticorpo monoclonal isolado ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de qualquer uma das modalidades 1-71 ou a composição farmacêutica da modalidade 72, em que o anticorpo, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, ou composição farmacêutica inibe ou reduz a atividade enzimática do CD39 humano em que a inibição ou redução da atividade enzimática de CD39 humano aumenta ou intensifica a proliferação de um linfócito no microambiente tumoral, tratando assim o câncer.

[00186] Modalidade 87. Um método de tratamento de um câncer em um indivíduo, o método compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz do anticorpo monoclonal isolado ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de qualquer uma das modalidades 1-71 ou a composição farmacêutica da modalidade 72, em que o anticorpo, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, ou composição farmacêutica inibe ou reduz a atividade enzimática do CD39 humano, em que a inibição ou redução da atividade enzimática de CD39 humano aumenta a expressão de um ou mais marcadores de ativação de células dendríticas.

[00187] Modalidade 88. Um método de tratamento de um câncer em um indivíduo, o método compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz do anticorpo monoclonal isolado ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de qualquer uma das modalidades 1-71 ou a composição farmacêutica da modalidade 72, em que o anticorpo, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, ou composição farmacêutica inibe ou reduz a atividade enzimática do CD39 humano, em que a inibição ou redução da atividade enzimática de CD39 humano intensifica a secreção de uma ou mais citocinas de células dendríticas

[00188] Modalidade 89. O método de qualquer uma das

modalidades 79-88, em que o câncer é selecionado do grupo que consiste em: câncer de pulmão (por exemplo, câncer de pulmão de células não pequenas), câncer de ovário, câncer de rim, câncer de testículo, câncer de pâncreas, câncer de mama (por exemplo, câncer de mama triplo-negativo), melanoma, câncer de cabeça e pescoço (por exemplo, câncer de cabeça e pescoço escamoso), câncer colorretal, câncer de bexiga, câncer endometrial, câncer de próstata, câncer de tireoide, carcinoma hepatocelular, câncer gástrico, câncer no cérebro, linfoma ou câncer renal (por exemplo, carcinoma de células renais).

[00189] Modalidade 90. O método de qualquer uma das modalidades 79-89, em que o anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, é administrado em combinação com um ou mais agentes ou procedimentos terapêuticos adicionais, em que o segundo agente ou procedimento terapêutico é selecionado do grupo que consiste em: quimioterapia, terapia anticâncer direcionada, fármaco oncolítico, agente citotóxico, terapia imunológica, citocina, procedimento cirúrgico, procedimento de radiação, ativador de uma molécula coestimulatória, inibidor de molécula inibitória, vacina ou imunoterapia celular ou uma combinação dos mesmos.

[00190] Modalidade 91. O método da modalidade 90, em que os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são um antagonista de PD-1, um antagonista de adenosina A2AR, um inibidor de CD73, um inibidor de CTLA-4, um inibidor de TIM-3, um inibidor de LAG-3, terapia celular de receptor de antígeno quimérico (CAR), uma antraciclina, ou uma combinação dos mesmos.

[00191] Modalidade 92. O método da modalidade 91, em que os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são uma combinação de um inibidor de CD73 e um antagonista de A2AR.

[00192] Modalidade 93. O método da modalidade 91, em que os um

ou mais agentes terapêuticos adicionais são uma combinação de um antagonista de PD-1 e um antagonista de adenosina A2AR.

[00193] Modalidade 94. O método da modalidade 91, em que os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são um antagonista de PD-1.

[00194] Modalidade 95. O método de qualquer uma das modalidades 91, 93 ou 94, em que o antagonista de PD-1 é selecionado do grupo que consiste em: PDR001, nivolumabe, pembrolizumabe, pidilizumabe, MEDI0680, REGN2810, TSR-042, PF-06801591, AMP-224 , FAZ053, Atezolizumab, Avelumabe, Durvalumabe e BMS-936559.

[00195] Modalidade 96. O método das modalidades 91, em que os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são um antagonista da adenosina A2AR.

[00196] Modalidade 97. O método de qualquer uma das modalidades 91-93, ou 97, em que o antagonista da adenosina A2AR é selecionado do grupo que consiste em: NIR178, CPI-444, AZD4635, Vipadenant, GBV-2034 e AB928.

[00197] Modalidade 98. O método da modalidade 97, em que o antagonista da adenosina A2AR é CPI-444.

[00198] Modalidade 99. O método da modalidade 91, em que os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são um inibidor de CD73.

[00199] Modalidade 100. O método de qualquer uma das modalidades 91, 92 ou 99, em que o inibidor de CD73 é selecionado do grupo que consiste em: AB421, MEDI9447 e BMS-986179.

[00200] Modalidade 101. O método da modalidade 91, em que os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são um inibidor de CTLA-4.

[00201] Modalidade 102. O método da modalidade 101, em que o inibidor de CTLA-4 é Ipilimumabe ou Tremelimumabe.

[00202] Modalidade 103. O método da modalidade 91, em que os

um ou mais agentes terapêuticos adicionais são um inibidor de TIM-3.

[00203] Modalidade 104. O método da modalidade 103, em que o inibidor de TIM-3 é MGB453 ou TSR-022.

[00204] Modalidade 105. O método da modalidade 91, em que os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são um inibidor de LAG-3.

[00205] Modalidade 106. O método da modalidade 105, em que o inibidor de LAG-3 é selecionado do grupo que consiste em LAG525, BMS-986016 e TSR-033.

[00206] Modalidade 107. O método da modalidade 91, em que os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são uma terapia celular do receptor de antígeno quimérico (CAR).

[00207] Modalidade 108. O método da modalidade 107, em que a terapia celular CAR é CTL019.

[00208] Modalidade 109. Um método para detectar CD39 humano em uma amostra biológica ou em um indivíduo, compreendendo (i) contatar a amostra ou o indivíduo (e, opcionalmente, uma amostra ou indivíduo de referência) com qualquer anticorpo na Tabela 1 sob condições que permitem que ocorra a interação da molécula de anticorpo e CD39 humano e (ii) detectar a formação de um complexo entre a molécula de anticorpo e a amostra ou o indivíduo (e, opcionalmente, a amostra ou indivíduo de referência).

[00209] Modalidade 110. Uso do anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, de qualquer uma das modalidades 1-71 ou a composição farmacêutica da modalidade 72, caracterizado pelo fato de que é para estimular uma resposta imune em um indivíduo, ou para tratar o câncer em um indivíduo, opcionalmente para uso em combinação com um ou mais agentes ou procedimentos terapêuticos adicionais.

[00210] Modalidade 111. Um kit compreendendo o anticorpo monoclonal isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo de

qualquer uma das modalidades 1-71 ou a composição farmacêutica da modalidade 72 e instruções para uso no estímulo de uma resposta imune em um indivíduo ou no tratamento de câncer em um indivíduo, opcionalmente, com instruções para uso em combinação com um ou mais agentes ou procedimentos terapêuticos adicionais.

[00211] Modalidade 112. O uso da modalidade 110 ou kit da modalidade 111, em que o segundo agente ou procedimento terapêutico é selecionado do grupo que consiste em: quimioterapia, terapia anticâncer direcionada, fármaco oncolítico, agente citotóxico, terapia imunológica, citocina, procedimento cirúrgico, procedimento de radiação, ativador de uma molécula coestimulatória, inibidor de molécula inibitória, vacina ou imunoterapia celular ou uma combinação dos mesmos.

[00212] Modalidade 113. O uso da modalidade 110 ou kit da modalidade 111, em que os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são um antagonista de PD-1, um antagonista de adenosina A2AR, um inibidor de CD73, um inibidor de CTLA-4, um inibidor de TIM-3, um inibidor de LAG-3, terapia celular de receptor de antígeno quimérico (CAR), uma antraciclina, ou uma combinação dos mesmos.

[00213] Modalidade 114. O uso da modalidade 110 ou kit da modalidade 111, em que os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são uma combinação de um inibidor de CD73 e um antagonista de A2AR.

[00214] Modalidade 115. O uso da modalidade 110 ou kit da modalidade 111, em que os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são uma combinação de um antagonista de PD-1 e um antagonista de adenosina A2AR.

[00215] Modalidade 116. O uso da modalidade 110 ou kit da modalidade 111, em que os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são um antagonista de PD-1.

[00216] Modalidade 117. O uso da modalidade 116 ou kit da modalidade 116, em que o antagonista de PD-1 é selecionado do grupo que consiste em: PDR001, nivolumabe, pembrolizumabe, pidilizumabe, MEDI0680, REGN2810, TSR-042, PF-06801591 e AMP-224.

[00217] Modalidade 118. O uso da modalidade 116 ou kit da modalidade 116, em que o antagonista de PD-1 é selecionado do grupo que consiste em: FAZ053, Atezolizumabe, Avelumabe, Durvalumabe e BMS-936559.

[00218] Modalidade 119. O uso da modalidade 110 ou kit da modalidade 111, em que os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são um antagonista de adenosina A2AR.

[00219] Modalidade 120. O uso da modalidade 119 ou kit da modalidade 119, em que o antagonista da adenosina A2AR é selecionado do grupo que consiste em: NIR178, CPI444, AZD4635, Vipadenant, GBV-2034 e AB928.

[00220] Modalidade 121. O uso da modalidade 110 ou kit da modalidade 111, em que os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são uma combinação de um inibidor de CD73.

[00221] Modalidade 122. O uso da modalidade 121 ou kit da modalidade 121, em que o inibidor de CD73 é selecionado do grupo que consiste em: AB421, MEDI9447 e BMS-986179.

[00222] Modalidade 123. O uso da modalidade 110 ou kit da modalidade 111, em que os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são uma combinação de um inibidor de CTLA-4.

[00223] Modalidade 124. O uso da modalidade 123 ou kit da modalidade 123, em que o inibidor de CTLA-4 é Ipilimumabe ou Tremelimumabe.

[00224] Modalidade 125. O uso da modalidade 110 ou kit da modalidade 111, em que os um ou mais agentes terapêuticos

adicionais são uma combinação de um inibidor de TIM-3.

[00225] Modalidade 126. O uso da modalidade 125 ou kit da modalidade 125, em que o inibidor de TIM-3 é MGB453 ou TSR-022.

[00226] Modalidade 127. O uso da modalidade 110 ou kit da modalidade 111, em que os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são uma combinação de um inibidor de LAG-3.

[00227] Modalidade 128. O uso da modalidade 127 ou kit da modalidade 127, em que o inibidor de LAG-3 é selecionado do grupo que consiste em LAG525, BMS-986016 e TSR-033.

[00228] Modalidade 129. O uso da modalidade 110 ou kit da modalidade 111, em que os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são uma terapia celular do receptor de antígeno quimérico (CAR).

[00229] Modalidade 130. O uso da modalidade 129 ou kit da modalidade 129, em que a terapia com células CAR é CTL019.

[00230] Modalidade 131. O método da modalidade 91, em que os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são uma antraciclina.

[00231] Modalidade 132. O método da modalidade 131, em que a antraciclina é selecionada de doxorrubicina, daunorrubicina, epirrubicina, idarrubicina e valrubicina.

[00232] Modalidade 133. O método da modalidade 132, em que a antraciclina é doxorrubicina.

[00233] Modalidade 134. O uso da modalidade 110 ou kit da modalidade 111, em que os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são uma antraciclina.

[00234] Modalidade 135. O uso da modalidade 134 ou kit da modalidade 134, em que a antraciclina é selecionada de doxorrubicina, daunorrubicina, epirrubicina, idarrubicina e valrubicina.

[00235] Modalidade 136. O uso da modalidade 135 ou kit da modalidade 135, em que a antraciclina é doxorrubicina.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[00236] **A FIG. 1A** fornece um gráfico que quantifica a expressão de CD86 em células dendríticas tratadas com anticorpos anti-CD39 ou anticorpos de controle, conforme indicado, na presença ou ausência de ATP. A expressão de CD86 foi determinada por análise por citometria de fluxo. **A FIG. 1B** fornece um gráfico que quantifica a expressão de CD86 e HLA-DR em células dendríticas tratadas com anticorpo anti-CD39 ou anticorpo controle, conforme indicado, na presença ou ausência de ATP. A expressão de CD86 e HLA-DR foi determinada por análise por citometria de fluxo. **A FIG. 1C** fornece um gráfico que quantifica a secreção de citocina IL-16 por células dendríticas tratadas com anticorpo anti-CD39 ou anticorpo controle, conforme indicado, na presença ou ausência de ATP. A quantificação de IL-16 foi determinada por MSD. **A FIG. 1D** fornece um gráfico que quantifica a secreção de citocina IL-12/IL-23p40 por células dendríticas tratadas com anticorpo anti-CD39 ou anticorpo controle, conforme indicado, na presença ou ausência de ATP. A quantificação de IL-12/IL-23p40 foi determinada por MSD. **A FIG. 1E** fornece um gráfico que quantifica a secreção de citocina VEGFA por células dendríticas tratadas com anticorpo anti-CD39 ou anticorpo controle, conforme indicado, na presença ou ausência de ATP. A quantificação de VEGFA foi determinada por MSD.

[00237] **A FIG. 2** fornece um gráfico que representa o índice de proliferação de células T CD4+ tratadas com anticorpos anti-CD39 ou anticorpos controle, conforme indicado, na presença de ATP. As células foram coradas com violeta de traço celular e a proliferação foi determinada por análise por citometria de fluxo.

[00238] **A FIG. 3A** fornece um gráfico que representa a inibição porcentual da atividade de CD39 na superfície de células MOLP-8 tratadas com uma faixa de concentrações de anticorpos anti-CD39 ou

anticorpos controle, conforme indicado. A inibição da conversão de ATP foi determinada por um ensaio de fosfato verde de malaquita. **A FIG. 3B** fornece um gráfico que representa a inibição porcentual da atividade de CD39 na superfície de células SK-MEL-28 tratadas com uma faixa de concentrações de anticorpos anti-CD39 ou anticorpos controle, conforme indicado. A inibição da conversão de ATP foi determinada por um ensaio de fosfato verde de malaquita. **A FIG. 3C** fornece um gráfico que representa a inibição porcentual da atividade de CD39 na superfície de células B humanas primárias tratadas com uma faixa de concentrações de anticorpos anti-CD39 ou anticorpos controle, conforme indicado. A inibição da conversão de ATP foi determinada por um ensaio de fosfato verde de malaquita. **A FIG. 3D** fornece um gráfico que representa a inibição porcentual da atividade de CD39 na superfície de monócitos humanos primários tratados com uma faixa de concentrações de anticorpos anti-CD39 ou anticorpos controle, conforme indicado. A inibição da conversão de ATP foi determinada por um ensaio de fosfato verde de malaquita.

[00239] **A FIG. 4A** fornece um gráfico que representa a extensão da ligação do anticorpo anti-CD39 ou do anticorpo controle à superfície das células SK-MEL-28. As células foram tratadas com uma faixa de concentrações de anticorpos anti-CD39 marcados com fluorescência ou anticorpos controle, conforme indicado. A extensão da ligação do anticorpo foi determinada por análise por citometria de fluxo. **A FIG. 4B** fornece um gráfico que representa a extensão da ligação do anticorpo anti-CD39 ou do anticorpo controle à superfície das células MOLP-8. As células foram tratadas com uma faixa de concentrações de anticorpos anti-CD39 marcados com fluorescência ou anticorpos controle, conforme indicado. A extensão da ligação do anticorpo foi determinada por análise por citometria de fluxo.

[00240] **A FIG. 5A** fornece um gráfico que representa as medições

do volume do tumor em camundongos implantados com células SK-MEL-28 e tratados com um anticorpo de controle de isotipo. **A FIG. 5B** fornece um gráfico que representa as medições do volume do tumor em camundongos implantados com células SK-MEL-28 e tratados com um anticorpo anti-CD39, conforme indicado.

[00241] **A FIG. 6** fornece um gráfico que descreve o efeito do tratamento com Nivolumabe na expressão de CD39 em células imunes de 5 doadores humanos, conforme determinado por análise de citometria de fluxo. Uma linha conecta os doadores correspondentes não tratados aos níveis de CD39 tratados com nivolumabe em 3 tipos diferentes de células imunes.

[00242] **A FIG. 7** fornece uma tabela que mostra as afinidades (K_D) medidas por ForteBio e análise de MSD para anticorpos anti-CD39 exemplificativos para CD39 humano recombinante.

[00243] **A FIG. 8A** fornece um gráfico que representa as medições do volume do tumor ao longo do tempo em camundongos implantados com células de mieloma múltiplo humano MOLP-8 e tratados com um anticorpo anti-CD39 (SRF367-A) isolado ou em combinação com a antraciclina doxorrubicina (Dox), conforme indicado. Setas pretas indicam tratamento com anticorpo. Setas cinza indicam tratamento com doxorrubicina. Os camundongos tratados com um anticorpo controle de isotipo ou apenas com doxorrubicina foram utilizados como comparadores. **A FIG. 8B** fornece um gráfico que representa os volumes médios de tumor de camundongos tratados como na **FIG. 8A** no dia 19.

[00244] **A FIG. 9** fornece um gráfico que representa as medições do volume do tumor ao longo do tempo em camundongos implantados com células de mieloma múltiplo humano MOLP-8 e tratados com um anticorpo anti-CD39 (SRF367-A) isolado ou em combinação com um antagonista do receptor de A2A adenosina (A2AR) (CPI- 444)

conforme indicado. Os camundongos tratados com um anticorpo controle de isótipo ou apenas com CPI-444 foram utilizados como comparadores.

DESCRIÇÃO DETALHADA

[00245] Várias doenças são caracterizadas pelo desenvolvimento de imunossupressão progressiva em um paciente. A presença de uma resposta imune prejudicada em pacientes com doenças malignas foi particularmente bem documentada. Os pacientes com câncer exibem uma variedade de funções imunes alteradas, como diminuição da hipersensibilidade tardia e diminuição da função lítica e resposta à proliferação de linfócitos. Aumentar as funções imunes em pacientes com câncer pode ter efeitos benéficos no controle do tumor.

[00246] Em um aspecto, a presente divulgação fornece anticorpos antagonistas anti-CD39. Em outros aspectos, a divulgação fornece métodos para o tratamento de um distúrbio associado à expressão aberrante de CD39. Em algumas modalidades, a divulgação fornece um anticorpo que se liga a CD39 humano, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, e inibe ou reduz a atividade enzimática do CD39 humano. Sem estar limitado pela teoria, acredita-se que a inibição ou redução da atividade enzimática do CD39 humano mantém, aumenta ou intensifica um nível de trifosfato de adenosina extracelular (eATP) (por exemplo, um nível imunoestimulatório) e diminui ou reduz um nível de adenosina extracelular em um microambiente tumoral em um paciente, proporcionando assim um benefício terapêutico ao paciente.

Definições

[00247] Os termos usados nas reivindicações e no relatório descritivo são definidos conforme estabelecido abaixo, a menos que especificado de outra forma.

[00248] Deve ser notado que, tal como utilizado no relatório descritivo e nas reivindicações anexas, as formas singulares "um",

"uma" e "o/a" incluem referentes plurais, a menos que o contexto indique claramente o contrário.

[00249] Como utilizado neste documento, "cerca de" será entendido por pessoas versadas na técnica e variará até certo ponto, dependendo do contexto em que é usado. Se existirem usos do termo que não são claros para os versadas, dado o contexto no qual ele é utilizado, "cerca de" significará até mais ou menos 10% do valor particular.

[00250] Neste pedido, a utilização de "ou" significa "e/ou" a menos que indicado de outra forma. No contexto de uma reivindicação dependente múltipla, o uso de "ou" refere-se a mais de uma reivindicação independente ou dependente precedente apenas na alternativa. Os termos "compreendendo", "incluindo" e "tendo" podem ser usados de forma intercambiável aqui. De acordo com a presente invenção, uma molécula "isolada" é uma molécula que foi removida de seu meio natural. Como tal, o termo "isolado" não reflete necessariamente a extensão em que a molécula foi purificado.

[00251] Como utilizado neste documento, o termo "trifosfato de adenosina extracelular" ou "ATP extracelular" ou "eATP" refere-se ao 5'-trifosfato de adenosina que está localizado em uma amostra de tecido ou tecido fora das células da amostra de tecido ou tecido e funciona na sinalização purinérgica. Como utilizado neste documento, o termo "adenosina extracelular" refere-se à adenosina que está localizada em uma amostra de tecido ou tecido fora das células na amostra de tecido ou tecido e funciona na sinalização purinérgica. Dentro de uma amostra de tecido ou tecido, existe uma relação entre a quantidade, concentração ou nível de ATP extracelular e a quantidade, concentração ou nível de adenosina extracelular. Sob condições fisiológicas (isto é, normais), a concentração citosólica (intracelular) de ATP no estado estacionário varia de aproximadamente 3 mM a

aproximadamente 10 mM, enquanto a quantidade, concentração ou nível de ATP extracelular é de aproximadamente 10 nM. O nível de ATP extracelular é mantido como resultado das atividades de enzimas extracelulares (por exemplo, ectonucleotidases, CD39, CD79) que metabolizam ou convertem ATP extracelular em adenosina extracelular 5'-difosfato (eADP), adenosina extracelular 5'-monofosfato (eAMP) e adenosina extracelular (Trautmann (2009) Sci Signal 2(56):pe6).

[00252] Os nucleosídeos extracelulares (por exemplo, adenosina extracelular) e os nucleotídeos (por exemplo, ATP extracelular) participam da sinalização purinérgica, que está envolvida na mediação de respostas celulares fisiológicas normais, incluindo, entre outras, estimulação (ou inibição) da morte celular, proliferação celular, migração e/ou diferenciação e secreção de fatores de crescimento e/ou mediadores inflamatórios pelas células. Processos fisiopatológicos como homeostase tecidual, cicatrização de feridas, neurodegeneração, imunidade antitumoral, inflamação e câncer também são modulados pela sinalização purinérgica (Bours et al., (2011) Front Biosci (Schol Ed) 3:1443-1456; Khakh et al., (2006) Nature 442:527-532; Idzko et al., (2014) 509:310-317; Antonioli et al., (2013) Rev Cancer 13:842-857). Uma baixa concentração de ATP extracelular em torno das células em repouso em um tecido sinaliza a presença de células vivas vizinhas. E, aumentos transitórios no ATP extracelular estão associados à sinalização fisiológica normal, por exemplo, nos sistemas nervoso e vascular. No entanto, aumentos significativos nos níveis extracelulares de ATP em um tecido (por exemplo, durante a morte celular imunogênica ICD) servem como um sinal de "perigo" chave, resultando na indução de processos inflamatórios e na modulação das respostas do sistema imunológico (por exemplo, respostas antitumorais) (Martins et al., (2014) Cell Death

Differ 21(1):79-91).

[00253] Em contraste com o tecido saudável, onde os níveis extracelulares de ATP são relativamente baixos (aproximadamente 10 nM), níveis elevados de ATP extracelular nos sítios de dano tecidual, inflamação e no microambiente tumoral (TME) podem atingir concentrações superiores a 100 μM (Virgilio and Adinolfi (2017) Oncogene 36:293-303). Níveis elevados de ATP extracelular em um tecido danificado ou no TME demonstraram resultar em efeitos imunomodulatórios e imunoestimulatórios (Vijayan et al., (2017) Nat Rev Cancer 17:709-724). Como utilizado neste documento, o termo "nível imunoestimulatório de ATP" refere-se a uma quantidade, quantidade, concentração, abundância ou nível de ATP extracelular que induz, estimula ou intensifica uma resposta imune.

[00254] Em alguns tipos de câncer, as condições dentro do TME podem finalmente resultar no acúmulo de adenosina extracelular como consequência da hidrólise acelerada de níveis elevados de ATP extracelular. Em contraste com os efeitos imunoestimulatórios de níveis elevados de ATP extracelular, sabe-se que a adenosina extracelular induz efeitos imunossupressores, por exemplo, no TME de alguns tipos de câncer (Virgilio (2012) Cancer Res 72(21):5441-5447). As enzimas responsáveis principalmente pela conversão do ATP extracelular em adenosina extracelular no TME são as ectonucleotidases CD39 e CD73. No TME, demonstrou-se que os efeitos imunossupressores da adenosina são mediados, pelo menos em parte, pela expansão das células T regulatórias (Tregs), inibição das respostas das células T efetoras e expansão das células supressoras derivadas do mieloide (MDSCs) (Allard et al., (2016) Curr Opin Pharmacol 29:7-16; Allard et al., (2016) Immunotherapy 8:145-163)

[00255] Como utilizado neste documento, o termo "varredura de

alanina" refere-se a uma técnica usada para determinar a contribuição de um resíduo de tipo selvagem específico para a estabilidade ou função(ões) (por exemplo, afinidade de ligação) de determinada proteína ou polipeptídeo. A técnica envolve substituir um resíduo de alanina por um resíduo do tipo selvagem em um polipeptídeo, seguido de uma avaliação da estabilidade ou função(ões) (por exemplo, afinidade de ligação) do derivado substituído pela alanina ou polipeptídeo mutante e comparação com o polipeptídeo de tipo selvagem. Técnicas para substituir a alanina por um resíduo do tipo selvagem em um polipeptídeo são conhecidas na técnica.

[00256] O termo "melhoria" refere-se a qualquer resultado terapeuticamente benéfico no tratamento de um estado de doença, por exemplo, câncer, incluindo profilaxia, diminuição da gravidade ou progressão, remissão ou cura da mesma.

[00257] Como utilizado neste documento, o termo "aminoácido" refere-se a aminoácidos naturais e sintéticos, bem como análogos de aminoácidos e miméticos de aminoácidos que funcionam de maneira semelhante aos aminoácidos naturais. Os aminoácidos de ocorrência natural são aqueles codificados pelo código genético, bem como os aminoácidos que são modificados posteriormente, por exemplo, hidroxiprolina, γ-carboxiglutamato e O-fosfoserina. Análogos de aminoácidos referem-se a compostos que possuem a mesma estrutura química básica que um aminoácido natural, isto é, um carbono que está ligado a um hidrogênio, um grupo carboxil, um grupo amino e um grupo R, por exemplo, homoserina, norleucina, sulfóxido de metionina, metionina e metil sulfônio. Tais análogos têm grupos R modificados (por exemplo, norleucina) ou estruturas peptídicas modificadas, mas retêm a mesma estrutura química básica que um aminoácido de ocorrência natural. Os miméticos de aminoácidos referem-se a compostos químicos que possuem uma estrutura diferente da

estrutura química geral de um aminoácido, mas que funcionam de maneira semelhante a um aminoácido de ocorrência natural.

[00258] Os aminoácidos podem ser aqui referidos pelos seus símbolos de três letras vulgarmente conhecidos ou pelos símbolos de uma letra recomendados pela Comissão de Nomenclatura Bioquímica IUPAC-IUB. Os nucleotídeos, da mesma forma, podem ser referidos por seus códigos de letra única comumente aceitos.

[00259] Como utilizado neste documento, uma "substituição de aminoácido" refere-se à substituição de pelo menos um resíduo de aminoácido existente em uma sequência de aminoácidos predeterminada (uma sequência de aminoácidos de um polipeptídeo de partida) por um segundo resíduo de aminoácido de "substituição" diferente. Uma "inserção de aminoácido" refere-se à incorporação de pelo menos um aminoácido adicional em uma sequência predeterminada de aminoácidos. Enquanto a inserção geralmente consiste na inserção de um ou dois resíduos de aminoácidos, "inserções peptídicas" maiores também podem ser feitas, por exemplo, inserção de cerca de três a cerca de cinco ou até dez, quinze ou vinte resíduos de aminoácidos. O(s) resíduo(s) inserido(s) pode(m) ocorrer naturalmente ou não naturalmente, conforme divulgado acima. Uma "deleção de aminoácidos" refere-se à remoção de pelo menos um resíduo de aminoácido de uma sequência predeterminada de aminoácidos.

[00260] Como utilizado neste documento, o termo "quantidade" ou "nível" é usado no sentido mais amplo e refere-se a uma quantidade, concentração ou abundância de uma substância (por exemplo, um metabólito, uma molécula pequena, uma proteína, um mRNA, um marcador). Ao se referir a um metabólito ou molécula pequena (por exemplo, trifosfato de adenosina (ATP)), os termos "quantidade", "nível" e "concentração" são geralmente usados de forma

intercambiável e geralmente se referem a uma quantidade detectável em uma amostra biológica. "Níveis elevados" ou "níveis aumentados" refere-se a um aumento na quantidade, concentração ou abundância de uma substância dentro de uma amostra em relação a uma amostra de controle, como um indivíduo ou indivíduos que não sofrem da doença ou distúrbio (por exemplo, câncer) ou um controle interno. Em algumas modalidades, o nível elevado de uma substância (por exemplo, ATP) em uma amostra refere-se a um aumento na quantidade da substância de cerca de 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% em relação à quantidade da substância em uma amostra de controle, conforme determinado pelas técnicas conhecidas na técnica (por exemplo, ensaio de verde malaquita). "Níveis reduzidos" refere-se a uma diminuição na quantidade, concentração ou abundância de uma substância (por exemplo, ATP) em um indivíduo em relação a um controle, como um indivíduo ou indivíduos que não sofrem da doença ou distúrbio (por exemplo, câncer) ou um controle interno. Em algumas modalidades, um nível reduzido é pouca ou nenhuma quantidade, concentração ou abundância detectável. Em algumas modalidades, o nível reduzido de uma substância (por exemplo, ATP) em uma amostra refere-se a uma diminuição na quantidade da substância de cerca de 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% em relação à quantidade da substância em uma amostra de controle, conforme determinado pelas técnicas conhecidas na técnica (por exemplo, ensaio de verde malaquita).

[00261] Ao se referir a uma proteína, mRNA ou marcador, como os descritos aqui, os termos "nível de expressão" ou "nível de expressão" em geral são usados de forma intercambiável e geralmente se referem

a uma quantidade detectável de uma proteína, mRNA ou marcador em uma amostra biológica. Em algumas modalidades, uma quantidade detectável ou nível detectável de uma proteína, mRNA ou um marcador está associado a uma probabilidade de resposta a um agente, como os aqui descritos. "Expressão" geralmente se refere ao processo pelo qual as informações contidas em um gene são convertidas nas estruturas (por exemplo, um marcador de proteína, como CD86) presente e operando na célula. Portanto, como utilizado neste documento, "expressão" pode se referir à transcrição para um polinucleotídeo, tradução para um polipeptídeo ou mesmo modificações no polinucleotídeo e/ou polipeptídeo (por exemplo, modificação pós-tradução de um polipeptídeo). Fragmentos do polinucleotídeo transcrito, do polipeptídeo traduzido ou modificações de polinucleotídeo e/ou polipeptídeo (por exemplo, modificação pós-tradução de um polipeptídeo) também devem ser considerados expressos se originam de um transcrito gerado por emenda alternativa ou transcrito degradado ou de um processamento pós-tradução do polipeptídeo, por exemplo, por proteólise. "Genes expressos" incluem aqueles que são transcritos em um polinucleotídeo como mRNA e depois traduzidos em um polipeptídeo e também aqueles que são transcritos em RNA, mas não traduzidos em um polipeptídeo (por exemplo, RNAs de transferência e ribossômicos). "Expressão elevada", "níveis elevados de expressão" ou "níveis elevados" refere-se a uma expressão aumentada ou níveis aumentados de uma substância dentro de uma amostra em relação a uma amostra de controle, como um indivíduo ou indivíduos que não sofrem da doença ou distúrbio (por exemplo, câncer) ou um controle interno. Em algumas modalidades, a expressão elevada de uma substância (por exemplo, um marcador de proteína, como CD86) em uma amostra refere-se a um aumento na quantidade da substância de cerca de 5%, 10%, 15%,

20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% em relação à quantidade da substância em uma amostra de controle, conforme determinado pelas técnicas conhecidas na técnica (por exemplo, FACS). "Expressão reduzida", "níveis reduzidos de expressão" ou "níveis reduzidos" refere-se a uma redução da expressão ou níveis reduzidos de uma substância (por exemplo, um marcador de proteína) em um indivíduo em relação a um controle, como um indivíduo ou indivíduos que são estão sofrendo da doença ou distúrbio (por exemplo, câncer) ou um controle interno. Em algumas modalidades, a expressão reduzida é pouca ou nenhuma expressão. Em algumas modalidades, a expressão reduzida de uma substância (por exemplo, um marcador de proteína) em uma amostra refere-se a uma redução na quantidade da substância de cerca de 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% em relação à quantidade da substância em uma amostra de controle, conforme determinado pelas técnicas conhecidas na técnica (por exemplo, FACS).

[00262] Como utilizado neste documento, os termos "antagonizar", "antagoniza" ou quando se refere a um substantivo "antagonista" e semelhantes referem-se ao bloqueio parcial ou total, inibição ou neutralização, eliminação ou remoção de uma atividade biológica de um polipeptídeo nativo (incluindo uma enzima). Como utilizado neste documento, um anticorpo que "antagoniza o CD39 humano" é aquele que bloqueia parcial ou totalmente, inibe, neutraliza, elimina ou remove a atividade enzimática da enzima CD39. Em algumas modalidades, a atividade antagonista é observada de uma maneira dependente da dose. Em algumas modalidades, o sinal medido (por exemplo, atividade biológica) é de pelo menos cerca de 5%, pelo menos cerca de 10%, pelo menos cerca de 15%, pelo menos cerca de 20%, pelo

menos cerca de 25%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 35%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 45%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 55%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 65%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 75%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 95% ou pelo menos cerca de 100% inferior ao sinal medido com um controle negativo em condições comparáveis. Também aqui divulgados, são métodos para identificar antagonistas adequados para uso nos métodos da divulgação. Por exemplo, esses métodos incluem identificar anticorpos que se ligam a um CD39 humano antagonista, como, por exemplo, ensaios de ligação como ensaio imunoabsorvente ligado a enzima (ELISA), sistemas Forte Bio© e radioimunoensaio (RIA). Ensaios como estes podem ser utilizados para determinar a capacidade de um anticorpo de se ligar ao polipeptídeo de interesse (por exemplo, CD39), bem como a capacidade do anticorpo de antagonizar o polipeptídeo (por exemplo, CD39). A eficácia de um anticorpo antagonista também pode ser determinada utilizando ensaios funcionais, como a capacidade de um antagonista de inibir a função do polipeptídeo ou de um agonista. Por exemplo, um ensaio funcional pode compreender contatar um polipeptídeo com uma molécula antagonista candidata e medir uma alteração detectável em uma ou mais atividades biológicas normalmente associadas ao polipeptídeo. A potência de um antagonista pode ser definida pelo seu valor IC_{50} (concentração necessária para inibir 50% da resposta do agonista). Quanto mais baixo for o valor de IC_{50} , maior será a potência do antagonista e menor será a concentração necessária para inibir a resposta biológica máxima.

[00263] Como utilizado neste documento, o termo "anticorpo antagonista anti-CD39" (denominado "anticorpo anti-CD39") refere-se

a um anticorpo aqui descrito, por exemplo, na Tabela 1. Em algumas modalidades, um anticorpo anti-CD39 se liga a CD39 (por exemplo, CD39 humano) e antagoniza uma atividade biológica de CD39 e/ou vias a jusante mediadas por sinalização de CD39 ou outra função mediada por CD39, por exemplo, atividade enzimática. Um anticorpo antagonista anti-CD39 abrange anticorpos que bloqueiam, antagonizam, suprimem, inibem, eliminam ou reduzem a atividade biológica de CD39 (por exemplo, ligação a ligando, atividade enzimática), incluindo vias a jusante mediadas pela sinalização ou função de CD39, como ligação a receptores e/ou indução de uma resposta celular a CD39 ou seus metabólitos. Em algumas modalidades, um anticorpo anti-CD39 se liga especificamente a CD39.

[00264] Em algumas modalidades, um anticorpo antagonista anti-CD39 se liga a CD39 e impede ou inibe a ligação de CD39 ao seu ligando cognato ou normal. Em algumas modalidades, um anticorpo antagonista anti-CD39 se liga a CD39 e inibe ou reduz a conversão enzimática de trifosfato de adenosina (ATP) em monofosfato de adenosina (AMP). Em algumas modalidades, um anticorpo antagonista anti-CD39 se liga a CD39 e inibe ou reduz a conversão enzimática de adenosina difosfato (ADP) em adenosina monofosfato (AMP). Em algumas modalidades, um anticorpo antagonista anti-CD39 se liga a CD39 e mantém ou aumenta uma quantidade imunoestimulatória de ATP. Em algumas modalidades, um anticorpo antagonista anti-CD39 se liga a CD39 reduz ou diminui os níveis de adenosina. Em algumas modalidades, um anticorpo antagonista anti-CD39 se liga a CD39 e estimula ou intensifica uma resposta antitumoral. Em algumas modalidades, o anticorpo antagonista anti-CD39 se liga a CD39 com uma afinidade de cerca de 5nM-20nM. Em algumas modalidades, o anticorpo antagonista anti-CD39 se liga a CD39 e compreende uma região constante de cadeia pesada de IgG1 do tipo selvagem ou

mutante ou uma região pesada de IgG4 do tipo selvagem ou mutante. Exemplos de anticorpos antagonistas anti-CD39 são fornecidos aqui.

[00265] Como utilizado neste documento, o termo "anticorpo" refere-se a um anticorpo inteiro compreendendo dois polipeptídeos de cadeia leve e dois polipeptídeos de cadeia pesada. Anticorpos inteiros incluem diferentes isotipos de anticorpos, incluindo anticorpos IgM, IgG, IgA, IgD e IgE. O termo "anticorpo" inclui um anticorpo policlonal, um anticorpo monoclonal, um anticorpo quimerizado ou quimérico, um anticorpo humanizado, um anticorpo primatizado, um anticorpo desimunizado e um anticorpo totalmente humano. O anticorpo pode ser produzido ou derivado de qualquer uma de uma variedade de espécies, por exemplo, mamíferos como seres humanos, primatas não humanos (por exemplo, orangotango, babuínos ou chimpanzés), cavalos, gado, porcos, ovelhas, cabras, cães, gatos, coelhos, porquinhos da índia, gerbos, hamsters, ratos e camundongos. O anticorpo pode ser um anticorpo isolado, purificado ou recombinante.

[00266] Como utilizado neste documento, o termo "fragmento de anticorpo", "fragmento de ligação ao antígeno" ou termos semelhantes se referem a um fragmento de um anticorpo que retém a capacidade de se ligar a um antígeno alvo (por exemplo, CD39) e inibe a atividade do antígeno alvo, mas é menor que o comprimento total. Tais fragmentos incluem, por exemplo, um anticorpo de cadeia única, um fragmento Fv de cadeia única (scFv), um fragmento Fd, um fragmento Fab, um fragmento Fab' ou um fragmento $F(ab')_2$. Um fragmento scFv é uma cadeia polipeptídica única que inclui as regiões variáveis de cadeia pesada e leve do anticorpo a partir do qual o scFv é derivado. Além disso, intracorpos, minicorpos, triacorpos e diacorpos também estão incluídos na definição de anticorpo e são compatíveis para uso nos métodos aqui descritos. Ver, por exemplo, Todorovska et al., (2001) *J. Immunol. Methods* 248(1):47-66; Hudson and Kortt, (1999) *J.*

Immunol. Methods 231(1):177-189; Poljak, (1994) *Structure* 2(12):1121-1123; Rondon and Marasco, (1997) *Annu. Rev. Microbiol.* 51:257-283, cujas divulgações são incorporadas aqui por referência na sua totalidade.

[00267] Como utilizado neste documento o termo "fragmento de anticorpo" também inclui, por exemplo, anticorpos de domínio único, como anticorpos de domínio único camelizados. Ver, por exemplo, Muyldermans et al., (2001) *Trends Biochem. Sci.* 26:230-235; Nuttall et al., (2000) *Curr. Pharm. Biotech.* 1:253-263; Reichmann et al., (1999) *J. Immunol. Meth.* 231:25-38; publicação de pedido PCT WO 94/04678 e WO 94/25591; e patente U.S. 6.005.079, todos os quais são incorporados aqui por referência na sua totalidade. Em algumas modalidades, a divulgação fornece anticorpos de domínio único compreendendo dois domínios VH com modificações de modo que os anticorpos de domínio único sejam formados.

[00268] Em algumas modalidades, um fragmento de ligação ao antígeno inclui a região variável de um polipeptídeo de cadeia pesada e a região variável de um polipeptídeo de cadeia leve. Em algumas modalidades, um fragmento de ligação ao antígeno aqui descrito compreende as CDRs do polipeptídeo de cadeia leve e cadeia pesada de um anticorpo.

[00269] Os diacorpos são fragmentos de anticorpo com dois sítios de ligação ao antígeno que podem ser bivalentes ou biespecíficos. Ver, por exemplo, EP 404,097; WO 1993/01161; Hudson et al., *Nat. Med.* 9:129-134 (2003); e Hollinger et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 6444-6448 (1993). Triacorpos e tetracorpos são também descritos em Hudson et al., *Nat. Med.* 9:129-134 (2003).

[00270] Os fragmentos de anticorpo podem ser produzidos por várias técnicas, incluindo, mas não se limitando à digestão proteolítica de um anticorpo intacto, bem como a produção por células

hospedeiras recombinantes (por exemplo, E. coli ou fago), conforme descrito neste documento.

[00271] O termo "célula de apresentação de antígeno" ou "APC" é uma célula que exibe antígeno estranho complexado com MHC em sua superfície. As células T reconhecem esse complexo usando o receptor de células T (TCR). Exemplos de APCs incluem, entre outras, células B, células dendríticas (DCs), células mononucleares do sangue periférico (PBMC), monócitos (como THP-1), células linfoblastoides B (como C1R.A2, 1518 B- LCL) e células dendríticas derivadas de monócitos (DCs). Algumas APCs internalizam antígenos por fagocitose ou por endocitose mediada por receptor.

[00272] O termo "apresentação de antígeno" refere-se ao processo pelo qual APCs capturam antígenos e permitem seu reconhecimento por células T, *por exemplo*, como um componente de um conjugado MHC-I e/ou MHC-II.

[00273] Como utilizado neste documento, o termo "apoptose" refere-se ao processo de morte celular programada que ocorre em organismos multicelulares (por exemplo, humanos). Os eventos bioquímicos e moleculares altamente regulados que resultam em apoptose podem levar a alterações morfológicas observáveis e características de uma célula, incluindo bolha da membrana, encolhimento do volume celular, condensação e fragmentação cromossômica do DNA e deterioração do mRNA. Um método comum para identificar células, incluindo células T, em apoptose é expor as células a uma proteína conjugada com fluoróforo (anexina V). A anexina V é comumente usada para detectar células apoptóticas por sua capacidade de se ligar à fosfatidilserina no folheto externo da membrana plasmática, que é um indicador precoce de que a célula está passando pelo processo de apoptose.

[00274] Como utilizado neste documento, o termo "célula B"

(alternativamente "linfócito B") refere-se a um tipo de glóbulo branco do subtipo de linfócito. As células B funcionam no componente da imunidade humoral do sistema imunológico adaptativo, secretando anticorpos. As células B também apresentam antígeno e secretam citocinas. As células B, ao contrário das outras duas classes de linfócitos, células T e células assassinas naturais, expressam receptores de células B (BCRs) em sua membrana celular. Os BCRs permitem que a célula B se ligue a um antígeno específico, contra o qual iniciará uma resposta de anticorpo.

[00275] Como utilizado neste documento, o termo "liga-se a CD39 imobilizado", refere-se à capacidade de um anticorpo da divulgação de se ligar a CD39, por exemplo, expresso na superfície de uma célula ou que está ligado a um suporte sólido.

[00276] Como utilizado neste documento, o termo "anticorpo biespecífico" ou "bifuncional" refere-se a um anticorpo híbrido artificial com dois pares diferentes de cadeia pesada/leve e dois sítios de ligação diferentes. Anticorpos biespecíficos podem ser produzidos por uma variedade de métodos incluindo fusão de hibridomas ou ligação de fragmentos Fab'. Ver, *por exemplo*, Songsivilai & Lachmann, (1990) *Clin. Exp. Immunol.* 79:315-321; Kostelny et al., (1992) *J. Immunol.* 148:1547-1553.

[00277] Tradicionalmente, a produção recombinante de anticorpos biespecíficos é baseada na co-expressão de dois pares de cadeia pesada/cadeia leve de imunoglobulina, em que os dois pares cadeia pesada/cadeia leve têm especificidades diferentes (Milstein and Cuello, (1983) *Nature* 305:537-539). Os domínios variáveis de anticorpo com as especificidades de ligação desejadas (sítios de combinação anticorpo-antígeno) podem ser fundidos com sequências de domínio constante de imunoglobulina. A fusão da região variável de cadeia pesada é preferencialmente com um domínio constante de

cadeia pesada de imunoglobulina, incluindo pelo menos parte das regiões de dobradiça, CH2 e CH3. Para obter mais detalhes sobre métodos ilustrativos atualmente conhecidos por gerar anticorpos biespecíficos, consulte, por exemplo, Suresh et al., (1986) *Methods Enzymol*. 121:210; Publicação PCT WO 96/27011; Brennan et al., (1985) *Science* 229:81; Shalaby et al., *J. Exp. Med*. (1992) 175:217-225; Kostelny et al., (1992) *J. Immunol.* 148(5):1547-1553; Hollinger et al., (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448; Gruber et al., (1994) *J. Immunol.* 152:5368; e Tutt et al., (1991) *J. Immunol.* 147:60. Os anticorpos biespecíficos também incluem anticorpos reticulados ou heteroconjugados. Os anticorpos heteroconjugados podem ser produzidos usando quaisquer métodos convenientes de reticulação. Agentes de reticulação adequados são bem conhecidos na técnica e são divulgados na Pat. U.S. 4.676.980, juntamente com várias técnicas de reticulação.

[00278] Várias técnicas para fazer e isolar fragmentos de anticorpos biespecíficos diretamente da cultura de células recombinantes também foram descritas. Por exemplo, anticorpos biespecíficos foram produzidos usando zíperes de leucina. Ver, por exemplo, Kostelny et al. (1992) J Immunol 148(5):1547-1553. Os peptídeos de zíper de leucina das proteínas Fos e Jun podem ser ligados às porções Fab' de dois anticorpos diferentes por fusão genética. Os homodímeros de anticorpos podem ser reduzidos na região de dobradiça para formar monômeros e depois reoxidados para formar os heterodímeros de anticorpos. Este método também pode ser utilizado para a produção de homodímeros de anticorpos. A tecnologia "diacorpo" descrita por Hollinger et al. (1993) Proc Natl Acad Sci USA 90: 6444-6448 proporcionou um mecanismo alternativo para produzir fragmentos de anticorpos biespecíficos. Os fragmentos compreendem um domínio variável de cadeia pesada (VH) conectado a um domínio variável de

cadeia leve (VL) por um ligante que é muito curto para permitir o emparelhamento entre os dois domínios na mesma cadeia. Por conseguinte, os domínios VH e VL de um fragmento são forçados a emparelhar com os domínios complementares VL e VH de outro fragmento, formando assim dois sítios de ligação ao antígeno. Outra estratégia para produzir fragmentos de anticorpos biespecíficos pelo uso de dímeros de cadeia simples de Fv (scFv) também foi relatada. Ver, por exemplo, Gruber et al. (1994) J Immunol 152:5368. Alternativamente, os anticorpos podem ser "anticorpos lineares", conforme descrito em, por exemplo, Zapata et al. (1995) Protein Eng. 8(10):1057-1062. Resumidamente, estes anticorpos compreendem um par de segmentos Fd em tandem (VH-CH1-VH-CH1) que formam um par de regiões de ligação ao antígeno. Os anticorpos lineares podem ser biespecíficos ou monoespecíficos.

[00279] Anticorpos com mais de duas valências (por exemplo, anticorpos triespecíficos) são contemplados e descritos em, por exemplo, Tutt et al. (1991) J Immunol 147:60.

[00280] A divulgação também abrange formas variantes de anticorpos multiespecíficos, como as moléculas de imunoglobulina de domínio variável duplo (DVD-Ig) descritas em Wu et al. (2007) Nat Biotechnol 25(11): 1290-1297. As moléculas de DVD-Ig são projetadas de modo que dois domínios variáveis de cadeia leve (VL) diferentes de dois anticorpos parentais diferentes sejam ligados em tandem diretamente ou através de um ligante curto por técnicas de DNA recombinante, seguidas pelo domínio constante de cadeia leve. Do mesmo modo, a cadeia pesada compreende dois domínios variáveis de cadeia pesada (VH) diferentes ligados em tandem, seguidos pelo domínio constante CH1 e região Fc. Os métodos para produzir moléculas de DVD-Ig a partir de dois anticorpos parentais são ainda descritos em, por exemplo, Publicação PCT WO 08/024188 e WO

07/024715. Em algumas modalidades, o anticorpo biespecífico é uma imunoglobulina Fabs-in-Tandem, na qual a região variável de cadeia leve com uma segunda especificidade é fundida à região variável de cadeia pesada de um anticorpo inteiro. Tais anticorpos são descritos em, por exemplo, Publicação de Pedido de Patente Internacional WO 2015/103072.

[00281] Como utilizado neste documento, "antígeno de câncer" ou "antígeno de tumor" refere-se a (i) antígenos específicos de tumores, (ii) antígenos associados a tumores, (iii) células que expressam antígenos específicos de tumores, (iv) células que expressam antígenos associados a tumores, (v) antígenos embrionários em tumores, (vi) células tumorais autólogas, (vii) antígenos de membrana específicos de tumores, (viii) antígenos de membrana associados a tumores, (ix) receptores de fatores de crescimento, (x) ligandos de fatores de crescimento, e (xi) qualquer outro tipo de antígeno ou célula ou material estabelecidor de antígeno que esteja associado a um câncer.

[00282] Como utilizado neste documento, o termo "resposta imune específica de câncer" refere-se à resposta imune induzida pela presença de tumores, células cancerígenas ou antígenos do câncer. Em certas modalidades, a resposta inclui a proliferação de linfócitos específicos do antígeno do câncer. Em certas modalidades, a resposta inclui expressão e superregulação de anticorpos e receptores de células T e a formação e liberação de linfocinas, quimiocinas e citocinas. Tanto o sistema imunológico inato quanto o adquirido interagem para iniciar respostas antigênicas contra tumores, células cancerígenas ou antígenos do câncer. Em certas modalidades, a resposta imune específica do câncer é uma resposta das células T.

[00283] O termo "carcinoma" é reconhecido na técnica e refere-se a neoplasias de tecidos epiteliais ou endócrinos, incluindo carcinomas

do sistema respiratório, carcinomas do sistema gastrointestinal, carcinomas do sistema geniturinário, carcinomas testiculares, carcinomas da mama, carcinomas prostáticos, carcinomas do sistema endócrino e melanomas. Os anticorpos anti-CD39 aqui descritos podem ser usados para tratar pacientes que têm, que são suspeitos de ter, ou que podem estar em alto risco de desenvolver qualquer tipo de câncer, incluindo carcinoma renal ou melanoma, ou qualquer doença viral. Carcinomas exemplificativos incluem aqueles formados a partir de tecido do colo do útero, pulmão, próstata, mama, cabeça e pescoço, cólon e ovário. O termo também inclui carcinosarcomas, que incluem tumores malignos compostos por tecidos carcinomatosos e sarcomatosos. Um "adenocarcinoma" refere-se a um carcinoma derivado de tecido glandular ou no qual as células tumorais formam estruturas glandulares reconhecíveis.

[00284] Como utilizado neste documento, o termo "CD39" refere-se ao polipeptídeo ectonucleosídeo trifosfato difosfolidrolase 1 codificado em humanos pelo gene *ENTPD1* . Outros nomes para CD39 incluem ENTPD1, ATPDase, NTPDase-1 e SPG64. CD39 catalisa a hidrólise de resíduos γ- e β-fosfato de trifosfatos de nucleosídeos extracelulares (NTPs; por exemplo, trifosfato de adenosina ou ATP) e difosfatos de nucleosídeo (NDPs; por exemplo, difosfato de adenosina ou ADP), convertendo essas moléculas em monofosfato de nucleosídeo (NMP; por exemplo, derivado de monofosfato de adenosina ou AMP). Uma sequência de aminoácidos exemplificativa de CD39 é estabelecida na SEQ ID NO: 138 e também na Sequência de Referência NCBI: NP_001767.3. A presente divulgação fornece anticorpos que se ligam e antagonizam CD39 humano.

[00285] Como utilizado neste documento, o termo "CD86" (B70/B7-2) refere-se a uma proteína da superfície celular de cerca de 75 kD, que é um segundo ligando para CD28 e CTLA-4 e desempenha um

papel importante na coestimulação de células T na resposta imune precoce (Azuma M. et al., 1993, Nature 366: 76; Nozawa Y. et al., 1993, J. Pathology 169: 309; Engle, P. et al. 1994, Blood 84: 1402; Engel, P. et al., CD86 Workshop Report. In: Leukocyte Typing V. Schlossman, S.F. et al. eds., 1994, Oxford University Press; Yang, X.F. et al., 1994, Upregulation of CD86 antigen on TPA stimulated U937 cells, 1994, (abstract). American Society of Hematology, Nashville, TN; Guesdon, J.-L. et al., 1979, J. Histochem. Cytochem. 27: 1131-1139).

[00286] Como utilizado neste documento, o termo "CDR" significa uma região determinante de complementaridade. O termo "região hipervariável" ou "HVR" às vezes é usado no lugar de "CDR", e ambos os termos se referem a cada uma das regiões de um domínio variável de anticorpo que são hipervariáveis em sequência ("regiões determinantes de complementaridade" ou "CDRs") e/ou formar laços estruturalmente definidos ("laços hipervariáveis") e/ou conter os resíduos de contato com o antígeno ("contatos de antígeno"). Geralmente, os anticorpos compreendem seis HVRs/CDRs: três no VH (H1, H2, H3) e três no VL (L1, L2, L3).

[00287] Como utilizado neste documento, o termo "resposta de linfócitos T citotóxicos (CTL)" refere-se a uma resposta imune induzida por células T citotóxicas. As respostas de CTL são mediadas principalmente por células T $CD8^+$.

[00288] Como utilizado neste documento, o termo "agente quimioterapêutico" (alternativamente "agente quimioterapêutico citotóxico") refere-se a um agente químico ou farmacológico que é conhecido por ser útil no tratamento de câncer. Além disso, como utilizado neste documento, o termo conota aqueles agentes farmacológicos que geralmente são venenos intracelulares inespecíficos citotóxicos, especialmente aqueles que funcionam para inibir o processo de divisão celular conhecido como mitose, e excluem

agentes farmacológicos que direcionam mais seletivamente os componentes celulares conhecidos por causar ou contribuir para a formação, desenvolvimento e/ou manutenção de câncer. Os agentes quimioterapêuticos podem induzir uma ou mais modalidades de morte celular, incluindo a morte celular imunogênica, que pode levar à liberação de ATP.

[00289] Como utilizado neste documento, o termo "competir", quando usado no contexto de proteínas de ligação ao antígeno (por exemplo, imunoglobulinas, anticorpos fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos) que competem pela ligação ao mesmo epítopo, refere-se a uma interação entre proteínas de ligação ao antígeno determinadas por um ensaio (por exemplo, um ensaio de ligação competitiva; um ensaio de bloqueio cruzado), em que uma proteína de ligação ao antígeno de teste (por exemplo, um anticorpo de teste) inibe (por exemplo, reduz ou bloqueia) a ligação específica de um antígeno de uma proteína de ligação ao antígeno (por exemplo, um anticorpo de referência, como SRF367) a um antígeno comum (por exemplo, CD39 ou um fragmento do mesmo). Em algumas modalidades, os anticorpos aqui descritos competem de forma cruzada com SRF367 (isto é, um anticorpo compreendendo as sequências variáveis das cadeias pesada e leve de SEQ ID NOs: 33 e 43, respectivamente).

[00290] Uma sequência de polipeptídeo ou aminoácido "derivada de" um polipeptídeo ou proteína designada refere-se à origem do polipeptídeo. De preferência, a sequência de polipeptídeo ou aminoácido que é derivada de uma sequência específica tem uma sequência de aminoácidos que é essencialmente idêntica àquela sequência ou uma porção da mesma, em que a porção consiste em pelo menos 10-20 aminoácidos, preferencialmente pelo menos 20- 30 aminoácidos, mais preferencialmente pelo menos 30-50 aminoácidos, ou que de outro modo é identificável por um versado na técnica como

tendo sua origem na sequência. Os polipeptídeos derivados de outro peptídeo podem ter uma ou mais mutações em relação ao polipeptídeo inicial, por exemplo, um ou mais resíduos de aminoácidos que foram substituídos por outro resíduo de aminoácido ou que tem uma ou mais inserções ou deleções de resíduos de aminoácidos.

[00291] Um polipeptídeo pode compreender uma sequência de aminoácidos que não ocorre naturalmente. Tais variantes têm necessariamente menos de 100% de identidade ou semelhança de sequência com a molécula inicial. Em certas modalidades, a variante terá uma sequência de aminoácidos de cerca de 75% a menos que 100% de identidade ou similaridade da sequência de aminoácidos com a sequência de aminoácidos do polipeptídeo de partida, mais preferencialmente de cerca de 80% a menos que 100%, mais de preferência de cerca de 85% a menos que 100%, mais preferencialmente de cerca de 90% a menos que 100% (por exemplo, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%) e mais preferencialmente de cerca de 95% a menos que 100%, por exemplo, ao longo do comprimento da molécula variante.

[00292] Em certas modalidades, há uma diferença de aminoácidos entre uma sequência polipeptídica inicial e a sequência derivada da mesma. A identidade ou semelhança com relação a essa sequência é aqui definida como a porcentagem de resíduos de aminoácidos na sequência candidata que são idênticos (ou seja, o mesmo resíduo) com os resíduos de aminoácidos iniciais, depois de alinhar as sequências e introduzir folgas, se necessário, para alcançar a identidade de sequência porcentual máxima. Em certas modalidades, um polipeptídeo consiste em, consiste essencialmente em ou compreende uma sequência de aminoácidos selecionada de uma sequência estabelecida na Tabela 1. Em certas modalidades, um polipeptídeo inclui uma sequência de aminoácidos pelo menos 80%,

81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92 %, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica a uma sequência de aminoácidos selecionada de uma sequência estabelecida na Tabela 1. Em certas modalidades, um polipeptídeo inclui uma sequência de aminoácidos contígua pelo menos 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica a uma sequência de aminoácidos contígua selecionada de uma sequência estabelecida na Tabela 1. Em certas modalidades, um polipeptídeo inclui uma sequência de aminoácidos com pelo menos 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 200, 300, 400 ou 500 (ou qualquer número inteiro dentro desses números) aminoácidos contíguos de uma sequência de aminoácidos selecionada de uma sequência estabelecida na Tabela 1.

[00293] Em certas modalidades, os anticorpos da divulgação são codificados por uma sequência de nucleotídeos. As sequências nucleotídicas da invenção podem ser úteis para várias aplicações, incluindo clonagem, terapia genética, expressão e purificação de proteínas, introdução de mutação, vacinação de DNA de um hospedeiro em necessidade do mesmo, geração de anticorpos para, por exemplo, imunização passiva, PCR, iniciador e geração de sonda e semelhantes. Em certas modalidades, a sequência nucleotídica da invenção compreende, consiste em, ou consiste essencialmente em, uma sequência nucleotídica selecionada de uma sequência estabelecida na Tabela 1. Em certas modalidades, uma sequência de nucleotídeos inclui uma sequência de nucleotídeos pelo menos 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica a uma sequência de nucleotídeos selecionada de uma sequência estabelecida na Tabela 1. Em certas modalidades, uma sequência nucleotídica inclui uma sequência nucletídica contígua pelo menos 80%, 81%, 82%, 83%,

84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica a uma sequência nucleotídica contígua selecionada de uma sequência estabelecida na Tabela 1. Em certas modalidades, uma sequência nucleotídica inclui uma sequência nucleotídica com pelo menos 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 200, 300, 400 ou 500 (ou qualquer número inteiro dentro desses números) nucleotídeos contíguos de uma sequência nucleotídica selecionada de uma sequência estabelecida na Tabela 1.

[00294] Também será entendido por um versado na técnica que os anticorpos adequados para uso nos métodos divulgados neste documento podem ser alterados de modo que variem em sequência das sequências naturais ou nativas das quais foram derivadas, mantendo a atividade desejável das sequências nativas. Por exemplo, podem ser feitas substituições de nucleotídeos ou aminoácidos que levam a substituições conservadoras ou alterações em resíduos de aminoácidos "não essenciais". As mutações podem ser introduzidas por técnicas padrão, tais como mutagênese dirigida ao sítio e mutagênese mediada por PCR.

[00295] Os anticorpos adequados para uso nos métodos aqui divulgados podem compreender substituições conservadoras de aminoácidos em um ou mais resíduos de aminoácidos, por exemplo, em resíduos de aminoácidos essenciais ou não essenciais. Uma "substituição conservativa de aminoácidos" é aquela em que o resíduo de aminoácido é substituído por um resíduo de aminoácido com uma cadeia lateral semelhante. As famílias de resíduos de aminoácidos tendo cadeias laterais similares foram definidas na técnica, incluindo cadeias laterais básicas (por exemplo, lisina, arginina, histidina), cadeias laterais apolares (por exemplo, alanina, valina, leucina, isoleucina cadeias laterais ácidas (por exemplo, ácido aspártico, ácido

glutâmico), cadeias laterais polares sem carga (por exemplo, glicina, asparagina, glutamina, serina, treonina, tirosina, cisteína) prolina, fenilalanina, metionina, triptofano), cadeias laterais ramificadas por beta (por exemplo, treonina, valina, isoleucina) e cadeias laterais aromáticas (por exemplo, tirosina, fenilalanina, triptofano, histidina). Assim, um resíduo de aminoácido não essencial em um polipeptídeo de ligação é de preferência substituído por outro resíduo de aminoácido da mesma família de cadeias laterais. Em certas modalidades, uma coluna de aminoácidos pode ser substituída por uma coluna estruturalmente semelhante que difere na ordem e/ou composição dos membros da família da cadeia lateral. Alternativamente, em certas modalidades, mutações podem ser introduzidas aleatoriamente ao longo de toda ou parte de uma sequência de codificação, como por mutagênese por saturação, e os mutantes resultantes podem ser incorporados nos polipeptídeos de ligação da invenção e rastreados quanto à sua capacidade de se ligar ao alvo desejado.

[00296] Como utilizado neste documento, o termo "apresentação cruzada" de antígeno refere-se à apresentação de antígenos proteicos exógenos a células T por meio de moléculas MHC classe I e classe II em APCs.

[00297] Como utilizado neste documento, o termo "reação cruzada" refere-se à capacidade de um anticorpo da divulgação de se ligar a CD39 de uma espécie diferente. Por exemplo, um anticorpo da presente divulgação que se liga a CD39 humano também pode se ligar a outras espécies de CD39. Como utilizado neste documento, a reatividade cruzada é medida detectando uma reatividade específica com antígeno purificado em ensaios de ligação (*por exemplo*, SPR, ELISA) ou ligando a, ou interagindo funcionalmente com células que expressam fisiologicamente CD39. Os métodos para determinar a

reatividade cruzada incluem ensaios de ligação padrão, como descrito aqui, por exemplo, por análise por ressonância plasmônica de superfície (SPR) Biacore™ utilizando um instrumento Biacore™ 2000 SPR instrument (Biacore AB, Uppsala, Sweden), ou técnicas de citometria de fluxo.

[00298] Como utilizado neste documento, o termo "resposta de linfócitos T citotóxicos (CTL)" refere-se a uma resposta imune induzida por células T citotóxicas. As respostas de CTL são mediadas principalmente por células T $CD8^+$.

[00299] Como utilizado neste documento, o termo "célula dendrítica" ou "DC" refere-se ao tipo de células de apresentação de antígeno que são leucócitos derivados da medula óssea (BM) e são o tipo mais potente de células de apresentação de antígeno. As DCs são antígenos de captura e processo, convertendo proteínas em peptídeos que são estabelecidos nas moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) reconhecidas pelas células T. DCs são heterogêneas, por exemplo, DCs mieloides e plasmocitoides; embora todas as DCs sejam capazes de captação, processamento e apresentação de antígenos em células T ingênuas, os subtipos de DC têm marcadores distintos e diferem em localização, vias migratórias, função imunológica detalhada e dependência de infecções ou estímulos inflamatórios para sua geração. Durante o desenvolvimento de uma resposta imune adaptativa, o fenótipo e a função das DCs desempenham um papel no início da tolerância, memória e diferenciação polarizada de auxiliar T 1 (Th1), Th2 e Th17.

[00300] Como utilizado neste documento, o termo "ativação de células dendríticas" refere-se à transição de células dendríticas imaturas para maduras; e as células dendríticas ativadas abrangem células dendríticas maduras e células dendríticas no processo de transição, em que a expressão de CD80 e CD86 que induzem sinais

coestimulatórios é elevada pelos estímulos de ativação. Células dendríticas humanas maduras são células positivas para a expressão de CD40, CD80, CD86 e HLA-classe II (por exemplo, HLA-DR). Uma célula dendrítica imatura pode ser distinguida de uma célula dendrítica madura, por exemplo, com base em marcadores selecionados do grupo que consiste em CD80 e CD86. Uma célula dendrítica imatura é fracamente positiva e preferencialmente negativa para esses marcadores, enquanto uma célula dendrítica madura é positiva. A discriminação de células dendríticas maduras é realizada rotineiramente por aqueles versados na técnica, e os respectivos marcadores descritos acima e métodos para medir sua expressão também são bem conhecidos dos versados na técnica.

[00301] Como utilizado neste documento, o termo "EC_{50}" refere-se à concentração de um anticorpo ou uma porção de ligação ao antígeno do mesmo, que induz uma resposta, seja em um ensaio *in vitro* ou um *in vivo* , que é 50% da resposta máxima, *i.e*, a meio caminho entre a resposta máxima e a linha de base.

[00302] Como utilizado neste documento, o termo "dose eficaz" ou "dosagem eficaz" é definido como uma quantidade suficiente para atingir ou pelo menos parcialmente alcançar o efeito desejado. O termo "dose terapeuticamente eficaz" é definido como uma quantidade suficiente para curar ou pelo menos parcialmente deter a doença e suas complicações num paciente que já sofre da doença. Os valores eficazes para esse uso dependerão da gravidade do distúrbio que está sendo tratado e do estado geral do sistema imunológico do paciente.

[00303] Como utilizado neste documento, o termo "epítopo" ou "determinante antigênico" refere-se a um sítio em um antígeno ao qual uma imunoglobulina ou anticorpo se liga especificamente. O termo "mapeamento de epítopo" refere-se a um processo ou método para identificar o sítio de ligação, ou epítopo, de um anticorpo ou fragmento

de ligação a antígeno do mesmo, em seu antígeno de proteína alvo. Métodos e técnicas de mapeamento de epítopos são aqui fornecidos. Os epítopos podem ser formados tanto a partir de aminoácidos contíguos como de aminoácidos não contíguos justapostos por dobramento terciário de uma proteína. Epítopos formados de aminoácidos contíguos são tipicamente retidos na exposição a solventes de desnaturação, enquanto os epítopos formados por dobramento terciário são tipicamente perdidos no tratamento com solventes de desnaturação. Um epítopo inclui tipicamente pelo menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 ou 15 aminoácidos em uma conformação espacial única. Os métodos para determinar quais epítopos estão ligados por um determinado anticorpo (*isto é*, mapeamento de epítopos) são bem conhecidos na técnica e incluem, por exemplo, ensaios de imunotransferência e imunoprecipitação, em que peptídeos contíguos ou sobrepostos de CD39 são testados quanto à reatividade com o anticorpo anti-CD39 fornecido. Os métodos para determinar a conformação espacial dos epítopos incluem técnicas na técnica e as descritas aqui, por exemplo, cristalografia de raios-x e ressonância magnética nuclear bidimensional (ver, *por exemplo*, *Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology,* Vol. 66, G. E. Morris, Ed. (1996)).

[00304] Também abrangidos pela presente divulgação estão os anticorpos que se ligam a um epítopo em CD39 que compreende a totalidade ou uma porção de um epítopo reconhecido pelos anticorpos específicos aqui descritos (*por exemplo*, o mesmo ou uma região sobreposta ou uma região entre ou abrangendo a região).

[00305] Também abrangidos pela presente divulgação estão os anticorpos que se ligam ao mesmo epítopo e/ou anticorpos que competem pela ligação a CD39 humano com os anticorpos aqui descritos. Os anticorpos que reconhecem o mesmo epítopo ou

competem pela ligação podem ser identificados usando técnicas de rotina. Tais técnicas incluem, por exemplo, um imunoensaio, que mostra a capacidade de um anticorpo de bloquear a ligação de outro anticorpo a um antígeno alvo, *isto é*, um ensaio de ligação competitivo. A ligação competitiva é determinada em um ensaio no qual a imunoglobulina em teste inibe a ligação específica de um anticorpo de referência a um antígeno comum, como o CD39. Numerosos tipos de ensaios de ligação competitiva são conhecidos, por exemplo: radioimunoensaio direto ou indireto (RIA) em fase sólida, imunoensaio enzimático direto ou indireto (EIA) em fase sólida, ensaio de competição em sanduíche (ver Stahli *et al*., *Methods in Enzymology* 9:242 (1983)); solid phase direct biotin-avidin EIA (see Kirkland *et al*., *J. Immunol*. 137:3614 (1986)); ensaio marcado direto em fase sólida, ensaio em sanduíche marcado direto em fase sólida (ver Harlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press (1988)); solid phase direct label RIA using I-125 label (ver Morel *et al*., *Mol. Immunol*. 25(1):7 (1988)); EIA direta da biotina-avidina em fase sólida (Cheung *et al*., *Virology* 176:546 (1990)); e RIA marcado direto. (Moldenhauer *et al*., *Scand. J. Immunol*. 32:77 (1990)). Tipicamente, esse ensaio envolve o uso de antígeno purificado ligado a uma superfície sólida ou células contendo um destes, uma imunoglobulina de teste não marcada e uma imunoglobulina de referência marcada. A inibição competitiva é medida através da determinação da quantidade de marcador ligado à superfície ou células sólidas na presença da imunoglobulina de teste. Normalmente, a imunoglobulina de teste está presente em excesso. Geralmente, quando um anticorpo competidor está presente em excesso, ele inibe a ligação específica de um anticorpo de referência a um antígeno comum em pelo menos 50-55%, 55-60%, 60-65%, 65-70% 70-75% ou mais.

[00306] Outras técnicas incluem, por exemplo, métodos de

mapeamento de epítopos, como análises de raios-x de cristais de antígeno: complexos de anticorpos que fornecem resolução atômica do epítopo e espectrometria de massa combinada com a troca de hidrogênio/deutério (H/D) que estuda a conformação e dinâmica das interações antígeno:anticorpo. Outros métodos monitoram a ligação do anticorpo a fragmentos de antígeno ou variações mutadas do antígeno, onde a perda de ligação devido a uma modificação de um resíduo de aminoácido dentro da sequência de antígeno é frequentemente considerada uma indicação de um componente de epítopo. Além disso, métodos combinatórios computacionais para mapeamento de epítopos também podem ser utilizados. Estes métodos dependem da capacidade do anticorpo de interesse em isolar por afinidade peptídeos curtos específicos de bibliotecas de peptídeos combinados de fagos combinatórios. Os peptídeos são então considerados condutores para a definição do epítopo correspondente ao anticorpo utilizado para rastrear a biblioteca de peptídeos. Para o mapeamento de epítopos, também foram desenvolvidos algoritmos computacionais que demonstram mapear epítopos descontínuos conformacionais.

[00307] Como utilizado neste documento, o termo "funções efetoras mediadas por Fc" ou "funções efetoras de Fc" refere-se às atividades biológicas de um anticorpo que não seja a função e o objetivo principal do anticorpo. Por exemplo, as funções efetoras de um anticorpo agnóstico terapêutico são outras atividades biológicas que não a ativação da proteína ou via alvo. Exemplos de funções de efeito de anticorpo incluem ligação a C1q e citotoxicidade dependente do complemento; ligação ao receptor Fc; citotoxicidade mediada por células dependente de anticorpos (ADCC); fagocitose; suprarregulação de receptores de superfície celular (por exemplo, receptor de célula B); falta de ativação de plaquetas que expressam o

receptor Fc; e ativação de células B. Muitas funções efetoras começam com a ligação de Fc a um receptor de Fcγ. Em algumas modalidades, o anticorpo alvo de antígeno tumoral tem função efetora, por exemplo, atividade ADCC. Em algumas modalidades, um anticorpo de direcionamento a antígeno tumoral aqui descrito compreende uma região constante variante com função efetora aumentada (por exemplo, capacidade aumentada de mediar ADCC) em relação à forma não modificada da região constante.

[00308] Como utilizado neste documento, o termo "receptor Fc" refere-se a um polipeptídeo encontrado na superfície das células efetoras imunes, que é ligado pela região Fc de um anticorpo. Em algumas modalidades, o receptor Fc é um receptor Fcγ. Existem três subclasses de receptores Fcγ, FcγRI (CD64), FcγRII (CD32) e FγcRIII (CD16). Todos os quatro isotipos de IgG (IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4) se ligam e ativam os receptores Fc FcγRI, FcγRIIA e FcγRIIIA. O FcγRIIB é um receptor inibitório e, portanto, a ligação do anticorpo a esse receptor não ativa o complemento e as respostas celulares. FcγRI é um receptor de alta afinidade que se liga à IgG na forma monomérica, enquanto FcγRIIA e FcγRIIA são receptores de baixa afinidade que se ligam à IgG apenas na forma multimérica e têm uma afinidade ligeiramente menor. A ligação de um anticorpo a um receptor Fc e/ou C1q é governada por resíduos ou domínios específicos nas regiões Fc. A ligação também depende dos resíduos localizados na região da dobradiça e na porção CH2 do anticorpo. Em algumas modalidades, a atividade agonística e/ou terapêutica dos anticorpos aqui descritos depende da ligação da região Fc ao receptor Fc (por exemplo, FcγR). Em algumas modalidades, a atividade agonística e/ou terapêutica dos anticorpos aqui descritos é aumentada pela ligação da região Fc ao receptor Fc (por exemplo, FcγR).

[00309] Como utilizado neste documento, o termo "anticorpo

humano" inclui anticorpos com regiões variáveis e constantes (se presentes) de sequências de imunoglobulina da linhagem germinativa humana. Os anticorpos humanos da divulgação podem incluir resíduos de aminoácidos não codificados por sequências de imunoglobulina da linhagem germinativa humana (*por exemplo*, mutações introduzidas por mutagênese aleatória ou específica de sítio *in vitro* ou por mutação somática *in vivo*) (Ver, por exemplo Lonberg et al., (1994) *Nature* 368(6474): 856-859); Lonberg, (1994) *Handbook of Experimental Pharmacology* 113:49-101; Lonberg & Huszar, (1995) *Intern. Rev. Immunol*. 13:65-93, e Harding & Lonberg, (1995) *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 764:536-546). No entanto, o termo "anticorpo humano" não inclui anticorpos em que as sequências CDR derivadas da linhagem germinativa de outra espécie de mamífero, como um camundongo, foram enxertadas em sequências estruturais humanas (*isto é*, anticorpos humanizados).

[00310] Como utilizado neste documento, o termo "anticorpo heterólogo" é definido em relação ao organismo não humano transgênico que produz esse anticorpo. Este termo refere-se a um anticorpo possuindo uma sequência de aminoácidos ou uma sequência de ácido nucleico codificante correspondente à encontrada em um organismo que não consiste no animal não humano transgênico e geralmente de uma espécie diferente da do animal não humano transgênico.

[00311] Os termos "induzindo uma resposta imune" e "intensificando uma resposta imune" são usados indistintamente e referem-se à estimulação de uma resposta imune (*isto é*, passiva ou adaptativa) a um antígeno particular. Os termos "induzir", conforme usados em relação à indução de CDC ou ADCC, referem-se à estimulação de determinados mecanismos de morte celular direta.

[00312] Como utilizado neste documento, o termo "morte celular

imunogênica" (também conhecida como "apoptose imunogênica" refere-se a uma modalidade de morte celular em que o contato de uma célula tumoral com um agente químico, biológico ou farmacológico está associado à ativação de uma ou mais vias de sinalização que induzem a expressão e emissão pre-mortem de moléculas de padrão molecular associado a danos (DAMPs) (por exemplo, trifosfato de adenosina, ATP) da célula tumoral, resultando no aumento da imunogenicidade da célula tumoral e na morte da célula tumoral de maneira imunogênica (por exemplo, por fagocitose). O ICD é uma forma de morte celular que induz o estresse do retículo endoplasmático (ER) e envolve alterações na composição da superfície celular, bem como a liberação de DAMPs que elevam o potencial imunogênico das células que estão morrendo. Os DAMPs incluem calreticulina, proteínas de choque térmico, anfoterina secretada (HMGB1) e ATP. Após a indução de ICD, a calreticulina é translocada para a superfície da célula moribunda, onde funciona como um sinal de "coma-me" para fagócitos profissionais. O HSP70 e o HSP90 também são translocados para a membrana plasmática, onde interagem com as células de apresentação de antígenos (APCs) e facilitam a apresentação cruzada de antígenos tumorais com moléculas MHC classe I, resultando em uma resposta de células T CD8+. O HMGB1 é liberado no espaço extracelular onde se liga aos receptores do tipo Toll nas APCs e facilita a apresentação de antígenos tumorais por células dendríticas (APCs profissionais) às células T. A secreção de ATP recruta os monócitos para o sítio da morte celular. Alterações associadas ao ICD de células tumorais ou cancerígenas podem induzir uma resposta imune antitumoral eficaz por meio da ativação, maturação e apresentação de antígenos aprimorada das células dendríticas e ativação de uma resposta específica das células T em um indivíduo.

[00313] Como utilizado neste documento, o termo "agente indutor de morte celular imunogênico" refere-se a um agente químico, biológico ou farmacológico que induz um processo, caminho ou modalidade de morte celular imunogênica.

[00314] Como utilizado neste documento, o termo "em combinação", como usado em conexão com um tratamento terapêutico, é entendido como significando que dois (ou mais) tratamentos diferentes, por exemplo, dois (ou mais) agentes terapêuticos, são distribuídos ao indivíduo durante o curso da aflição do indivíduo com o distúrbio, de modo que os efeitos dos tratamentos sobre o paciente se sobreponham em algum momento. Em certas modalidades, a distribuição de um tratamento termina antes do início da distribuição do outro tratamento (por exemplo, o primeiro tratamento é anterior a um segundo ou terceiro (um subsequente) tratamento). Em certas outras modalidades, a distribuição de um tratamento ainda está ocorrendo quando a distribuição do segundo começa, de modo que há sobreposição em termos de administração. Às vezes, isso é referido aqui como "distribuição simultânea" ou "distribuição concorrente". Em certas modalidades, a redução de um sintoma ou outro parâmetro relacionado ao distúrbio após a administração de uma terapia combinada é maior do que o que seria observado com um tratamento administrado na ausência do outro.

[00315] Como utilizado neste documento, os termos "inibe" ou "bloqueia" (*por exemplo*, referindo-se à inibição/bloqueio da conversão mediada por CD39 humano de um trifosfato de nucleosídeo (por exemplo, trifosfato de adenosina, ATP) ou um difosfato de nucleosídeo (por exemplo, difosfato de adenosina, ADP) em um monofosfato de nucleosídeo (por exemplo, monofosfato de adenosina, AMP)) são usados de forma intercambiável e abrangem inibição/bloqueio parcial e total. A inibição/bloqueio do CD39 reduz ou altera o nível normal ou o

tipo de atividade que ocorre sem inibição ou bloqueio. A inibição e o bloqueio também se destinam a incluir qualquer diminuição mensurável na afinidade de ligação de CD39 quando em contato com um anticorpo anti-CD39 em comparação com CD39 que não está em contato com um anticorpo anti-CD39, *por exemplo*, inibe a ligação de CD39 em pelo menos cerca de 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% , 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100%. Em algumas modalidades, o anticorpo anti-CD39 inibe a conversão do nucleosídeo trifosfato (por exemplo, ATP) em pelo menos cerca de 70%. Em algumas modalidades, o anticorpo anti-CD39 inibe a conversão de nucleotídeo trifosfato (por exemplo, ATP) em pelo menos 80%.

[00316] Como utilizado neste documento, o termo "inibe o crescimento" (por exemplo, referente a células) pretende incluir qualquer redução mensurável no crescimento de uma célula, por exemplo, a inibição do crescimento de uma célula em pelo menos cerca de 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 99% ou 100%.

[00317] Como utilizado neste documento, um indivíduo "em necessidade de prevenção", "em necessidade de tratamento" ou "em necessidade de tratamento" refere-se a um que, a critério de um médico apropriado (por exemplo, médico, enfermeiro ou uma enfermeira no caso de humanos; um veterinário no caso de mamíferos não humanos) se beneficiaria razoavelmente de um determinado tratamento (como o tratamento com uma composição compreendendo um anticorpo anti-CD39).

[00318] O termo "in vivo"; refere-se a processos que ocorrem em um organismo vivo.

[00319] Como utilizado neste documento, o termo "anticorpo isolado" pretende se referir a um anticorpo que está substancialmente

livre de outros anticorpos com especificidades antigênicas diferentes (por exemplo, um anticorpo isolado que se liga a CD39 humano está substancialmente livre de anticorpos que se ligam a antígenos que não o CD39) Um anticorpo isolado que se liga a um epítopo pode, no entanto, ter reatividade cruzada com outras proteínas CD39 de diferentes espécies. No entanto, o anticorpo continua a exibir ligação específica a CD39 humano em um ensaio de ligação específico, como aqui descrito. Além disso, um anticorpo isolado é tipicamente substancialmente livre de outro material celular e/ou produtos químicos. Em algumas modalidades, uma combinação de anticorpos "isolados" com diferentes especificidades de CD39 é combinada em uma composição bem definida.

[00320] Como utilizado neste documento, o termo "molécula de ácido nucleico isolado" refere-se a ácidos nucleicos que codificam anticorpos ou porções de anticorpos (por exemplo, VH, VL, CDR3) que se ligam a CD39, se refere a uma molécula de ácido nucleico na qual as sequências de nucleotídeos que codificam o anticorpo ou porção de anticorpo está livre de outras sequências nucleotídicas que codificam anticorpos ou porções de anticorpos que se ligam a outros antígenos que não o CD39, cujas outras sequências podem flanquear naturalmente o ácido nucleico no DNA genômico humano. Por exemplo, uma sequência selecionada de uma sequência estabelecida na Tabela 1 corresponde às sequências nucleotídicas compreendendo as regiões variáveis de cadeia pesada (VH) e de cadeia leve (VL) dos anticorpos anticorpo anti-CD39 aqui descritos.

[00321] Como utilizado neste documento, "isótipo" refere-se à classe de anticorpos (por exemplo, IgM ou IgG1) que é codificada pelos genes da região constante de cadeia pesada. Em algumas modalidades, um anticorpo humano da divulgação é do isótipo IgG1. Em algumas modalidades, um anticorpo humano da divulgação é do

isótipo IgG2. Em algumas modalidades, um anticorpo humano da divulgação é do isótipo IgG3. Em algumas modalidades, um anticorpo humano da divulgação é do isótipo IgG4. Em algumas modalidades, o isótipo é do tipo selvagem. Em algumas modalidades, o isótipo é mutante. Como utilizado neste documento, um anticorpo com a designação "A" possui um isótipo IgG4 compreendendo uma mutação S228P, de acordo com a numeração da UE. Como utilizado neste documento, um anticorpo com a designação "B" tem um isótipo IgG4 compreendendo uma mutação S228P e L235E, de acordo com a numeração da UE. Como utilizado neste documento, um anticorpo com uma designação "C" tem uma designação "C" tem um isótipo IgG1 do tipo selvagem. Como utilizado neste documento, um anticorpo com a designação "D" tem um isótipo IgG4 do tipo selvagem. *Ver, por exemplo,* Vidarsson et al. Front Immunol. (2014), 5: 520, incorporado por referência aqui na sua totalidade e na página 6, col. 2, primeiro parágrafo completo para discussão da mutação S228P IgG4. *Ver, por exemplo*, Newman et al. Clinical Immunol. (2001) 98(2): 164-174, aqui incorporado por referência na sua totalidade, para discussão das mutações S228P e L235E IgG4.

[00322] Como utilizado neste documento, o termo "troca de isótipo" refere-se ao fenômeno pelo qual a classe, ou isótipo, de um anticorpo muda de uma classe de Ig para uma das outras classes de Ig.

[00323] Como utilizado neste documento, o termo "KD" ou "K_D"; refere-se à constante de dissociação de equilíbrio de uma reação de ligação entre um anticorpo e um antígeno. O valor de K_D é uma representação numérica da razão entre a constante de taxa off do anticorpo (kd) e a constante de taxa on do anticorpo (ka). O valor de K_D está inversamente relacionado à afinidade de ligação de um anticorpo a um antígeno. Quanto menor o valor de K_D , maior a afinidade do anticorpo pelo seu antígeno. Afinidade é a força de

ligação de uma única molécula ao seu ligando e é normalmente medida e relatada pela constante de dissociação de equilíbrio (K_D), que é usada para avaliar e classificar as forças de ordem das interações bimoleculares.

[00324] Como utilizado neste documento, o termo "kd" ou "k_d"; (alternativamente "koff" ou "k_{off}") destina-se a referir-se à constante de taxa off para a dissociação de um anticorpo de um complexo anticorpo/antígeno. O valor de kd é uma representação numérica da fração de complexos que decaem ou se dissociam por segundo e é expresso em unidades s^{-1}.

[00325] Como utilizado neste documento, o termo "ka" ou "k_a"; (alternativamente "kon" ou "k_{on}";) destina-se a referir-se à constante de taxa on para a associação de um anticorpo com um antígeno. O valor de ka é uma representação numérica do número de complexos de anticorpo/antígeno formados por segundo em uma solução 1 molar (1M) de anticorpo e antígeno e é expresso em unidades $M^{-1}s^{-1}$.

[00326] Como utilizado neste documento, o termo "leucócito" refere-se a um tipo de glóbulo branco envolvido na defesa do corpo contra organismos infecciosos e substâncias estranhas. Os leucócitos são produzidos na medula óssea. Existem 5 tipos principais de glóbulos brancos, subdivididos em 2 grupos principais: leucócitos polimorfonucleares (neutrófilos, eosinófilos, basófilos) e leucócitos mononucleares (monócitos e linfócitos).

[00327] Como utilizado neste documento, o termo "linfócitos" refere-se a um tipo de leucócito ou glóbulo branco que está envolvido nas defesas imunológicas do corpo. Existem dois tipos principais de linfócitos: células B e células T.

[00328] Como utilizado neste documento, os termos "ligado", "fundido" ou "fusão" são usados de forma intercambiável. Estes termos referem-se à união de mais dois elementos ou componentes ou

domínios, por qualquer meio, incluindo conjugação química ou meio recombinante. Os métodos de conjugação química (por exemplo, usando agentes de reticulação heterobifuncional) são conhecidos na técnica.

[00329] Como utilizado neste documento, "administração local" ou "distribuição local", refere-se à distribuição que não depende do transporte da composição ou agente para o tecido ou sítio alvo pretendido através do sistema vascular. Por exemplo, a composição pode ser distribuída por injeção ou implantação da composição ou agente ou por injeção ou implantação de um dispositivo contendo a composição ou agente. Após a administração local na vizinhança de um tecido ou sítio alvo, a composição ou agente, ou um ou mais componentes do mesmo, pode difundir para o sítio ou tecido alvo pretendido.

[00330] Como utilizado neste documento, "moléculas de MHC" refere-se a dois tipos de moléculas, MHC classe I e MHC classe II. As moléculas do MHC classe I apresentam antígeno para células T CD8+ específicas e as moléculas do MHC classe II apresentam antígeno para células T CD4+ específicas. Os antígeno distribuídos exogenamente às APCs são processados principalmente para associação ao MHC classe II. Por outro lado, os antígenos distribuídos endogenamente às APCs são processados principalmente para associação ao MHC classe I.

[00331] Como utilizado neste documento, o termo "anticorpo monoclonal" refere-se a um anticorpo que exibe uma única especificidade e afinidade de ligação para um epítopo específico. Por conseguinte, o termo "anticorpo monoclonal humano" refere-se a um anticorpo que exibe uma especificidade de ligação única e que possui regiões constantes variáveis e opcionais derivadas de sequências de imunoglobulina da linhagem germinativa humana. Em algumas

modalidades, os anticorpos monoclonais humanos são produzidos por um hibridoma que inclui uma célula B obtida de um animal não humano transgênico, por exemplo, um camundongo transgênico, tendo um genoma compreendendo um transgene de cadeia pesada humano e um transgene de cadeia leve fundido a uma célula imortalizada.

[00332] Como utilizado neste documento, o termo "monócito" refere-se a um tipo de leucócito e pode se diferenciar em macrófagos e células dendríticas para efetuar uma resposta imune.

[00333] Como utilizado neste documento, o termo "célula natural assassina (NK)" refere-se a um tipo de linfócito citotóxico. Estes são linfócitos grandes, geralmente granulares, não T e não B, que matam certas células tumorais e desempenham um importante papel na imunidade inata a vírus e outros patógenos intracelulares, bem como na citotoxicidade mediada por células dependentes de anticorpos (ADCC).

[00334] Como utilizado neste documento, o termo "ocorrência natural" aplicado a um objeto refere-se ao fato de que um objeto pode ser encontrado na natureza. Por exemplo, uma sequência de polipeptídeos e polinucleotídeos que está presente em um organismo (incluindo vírus) que pode ser isolada de uma fonte natural e que não foi intencionalmente modificada pelo homem no laboratório é de ocorrência natural.

[00335] Como utilizado neste documento, o termo "isótipo não comutado" refere-se à classe isotípica de cadeia pesada que é produzida quando não ocorre a troca de isótipo; o gene CH que codifica o isótipo não comutado é tipicamente o primeiro gene CH imediatamente a jusante do gene VDJ reorganizado funcionalmente. A troca de isótipo foi classificada como troca de isótipo clássico ou não clássico. A troca de isótipo clássico ocorre por eventos de

recombinação que envolvem pelo menos uma região de sequência de troca no transgene. A troca de isótipo não clássica pode ocorrer por, por exemplo, recombinação homóloga entre humanos σμ e humanos ∑μ (δdeleção associada). Mecanismos alternativos não clássicos de troca, como intertransgene e/ou recombinação inter-cromossômica, entre outros, podem ocorrer e efetuar a troca de isótipo.

[00336] Como utilizado neste documento, o termo "ácido nucleico" refere-se a desoxirribonucleotídeos ou ribonucleotídeos e polímeros dos mesmos na forma de fita simples ou dupla. A menos que especificamente limitado, o termo abrange ácidos nucleicos contendo análogos conhecidos de nucleotídeos naturais que têm propriedades de ligação semelhantes ao ácido nucleico de referência e são metabolizados de maneira semelhante aos nucleotídeos de ocorrência natural. Salvo indicação em contrário, uma sequência de ácido nucleico específica também inclui implicitamente variantes modificadas conservativamente (por exemplo, substituições de códons degeneradas) e sequências complementares e bem como a sequência explicitamente indicada. Especificamente, as substituições de códons degeneradas podem ser alcançadas gerando sequências nas quais a terceira posição de um ou mais códons selecionados (ou todos) é substituída por resíduos de base mista e/ou desoxininosina (Batzer et al., Nucleic Acid Res. 19:5081, 1991; Ohtsuka et al., Biol. Chem. 260:2605-2608, 1985; e Cassol et al, 1992; Rossolini et al, Mol. Cell. Probes 8:91-98, 1994). Para arginina e leucina, as modificações na segunda base também podem ser conservadoras. O termo ácido nucleico é usado de forma intercambiável com o gene, cDNA e mRNA codificado por um gene.

[00337] Os polinucleotídeos aqui utilizados podem ser compostos de qualquer polirribonucleotídeo ou polideoxribonucleotídeo, que pode ser RNA ou DNA não modificado ou RNA ou DNA modificado. Por

exemplo, os polinucleotídeos podem ser compostos de DNA de fita simples e dupla, DNA que é uma mistura de regiões de fita simples e dupla, RNA de fita simples e dupla e RNA que é uma mistura de regiões de fita simples e dupla, moléculas híbridas compreendendo DNA e RNA que podem ser de fita simples ou, mais tipicamente, de fita dupla ou uma mistura de regiões de fita simples e dupla. Além disso, o polinucleotídeo pode ser composto de regiões de fita tripla compreendendo RNA ou DNA ou RNA e DNA. Um polinucleotídeo também pode conter uma ou mais bases modificadas ou espinhas dorsais de DNA ou RNA modificados para estabilidade ou por outros motivos. Bases "modificadas" incluem, por exemplo, bases tritiladas e bases incomuns, como a inosina. Uma variedade de modificações pode ser feita no DNA e RNA; assim, "polinucleotídeo" abrange formas quimicamente, enzimaticamente ou metabolicamente modificadas.

[00338] Um ácido nucleico é "operativamente ligado" que é colocado numa relação funcional com outra sequência de ácidos nucleicos. Por exemplo, um promotor ou intensificador está operacionalmente ligado a uma sequência de codificação se isso afeta a transcrição da sequência. No que diz respeito às sequências regulatórias da transcrição, operacionalmente ligada significa que as sequências de DNA que estão sendo ligadas são contíguas e, quando necessário, para unir duas regiões codificadoras de proteínas, contíguas e na estrutura de leitura. Para sequências de comutação, operacionalmente ligado indica que as sequências são capazes de efetuar a recombinação de comutação.

[00339] Como utilizado neste documento, "administração parenteral", "administrado parenteralmente" e outras frases gramaticalmente equivalentes, referem-se a modos de administração que não sejam administração enteral e tópica, geralmente por injeção, e incluem, sem limitação, intravenosa, intranasal, intraocular,

intramuscular, injeção e infusão intra-arterial, intratecal, intracapsular, intra-orbital, intracardíaca, intradérmica, intraperitoneal, trans-traqueal, subcutânea, subcuticular, intra-articular, subcapsular, subaracnoidea, intra-espinhal, epidural, intracerebral, intracraniana, intracarotídea e intraesternal.

[00340] Como utilizado neste documento, o termo "paciente" é usado de forma intercambiável com "indivíduo" e "indivíduo" e inclui seres humanos e outros mamíferos que recebem tratamento profilático ou terapêutico.

[00341] Como utilizado neste documento, o termo "antagonista de PD-1" refere-se a qualquer composto químico ou molécula biológica que inibe a via de sinalização de PD-1 ou que inibe a função de PD-1 em uma célula (por exemplo, uma célula imune). Em algumas modalidades, um antagonista de PD-1 bloqueia a ligação de PD-L1 a PD-1 e/ou PD-L2 a PD-1. Em algumas modalidades, o antagonista de PD-1 se liga à PD-1. Em algumas modalidades, o antagonista de PD-1 se liga a PD-L1.

[00342] O termo "identidade porcentual", no contexto de duas ou mais sequências de ácidos nucleicos ou polipeptídeos, refere-se a duas ou mais sequências ou subsequências que possuem uma porcentagem especificada de nucleotídeos ou resíduos de aminoácidos iguais, quando comparados e alinhados para obter a máxima correspondência, conforme medido usando um dos algoritmos de comparação de sequência descritos abaixo (por exemplo, BLASTP e BLASTN ou outros algoritmos disponíveis para pessoas habilitadas) ou por inspeção visual. Dependendo da aplicação, a "identidade porcentual" pode existir em uma região da sequência que está sendo comparada, por exemplo, em um domínio funcional ou, alternativamente, em todo o comprimento das duas sequências a serem comparadas. Para comparação de sequência, tipicamente uma

sequência atua como uma sequência de referência a qual as sequências de teste são comparadas. Ao usar um algoritmo de comparação de sequência, as sequências de teste e de referência são inseridas em um computador, as coordenadas de subsequência são designadas, se necessário, e os parâmetros do programa de algoritmo de sequência são designados. O algoritmo de comparação de sequência calcula então a porcentagem de identidade de sequência para a(s) sequência(s) de teste relativa à sequência de referência, com base nos parâmetros de programa designados.

[00343] O alinhamento ideal de sequências para comparação pode ser conduzido, por exemplo, pelo algoritmo de homologia local de Smith & Waterman, Adv. Appl. Math. 2:482 (1981); pelo algoritmo de alinhamento por homologia de Needleman & Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443 (1970), pela busca do método de similaridade de Pearson e Lipman, Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85:2444 (1988), por implementações computadorizadas desses algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA e TFASTA no Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis.) ou por inspeção visual (ver geralmente Ausubel et al., infra).

[00344] Um exemplo de um algoritmo que é adequado para determinar a identidade porcentual de sequência e similaridade de sequência é o algoritmo BLAST, descrito em Altschul et al., J. Mol. Biol. 215:403-410 (1990). O software para realização de análises BLAST está disponível ao público, através do site do National Center for Biotechnology Information (NCBI).

[00345] Como geralmente aqui usado, "farmaceuticamente aceitável" refere-se aos compostos, materiais, composições e/ou de formas de dosagem as quais são, no âmbito do julgamento médico, adequadas para uso em contato com os tecidos, órgãos e/ou fluidos corporais dos seres humanos e animais sem toxicidade excessiva,

irritação, reação alérgica ou outros problemas ou complicações proporcionais com uma razão risco/benefício razoável.

[00346] Como utilizado neste documento, um "transportador farmaceuticamente aceitável" refere-se a e inclui todos e quaisquer solventes, meios de dispersão, revestimentos, agentes antibacterianos e antifúngicos, agentes de retardamento de absorção e isotônico e similares que são fisiologicamente compatíveis. As composições podem incluir um sal farmaceuticamente aceitável, por exemplo, um sal de adição de ácido ou um sal de adição de base (ver, por exemplo, Berge et al. (1977) J Pharm Sci 66:1-19).

[00347] Como aqui utilizado, os termos "polipeptídeo", "peptídeo" e "proteína" são usados de forma intercmbiável para se referirem a um polímero de resíduos de aminoácidos. Os termos se aplicam a polímeros de aminoácidos nos quais um ou mais resíduos de aminoácidos são um mimético químico artificial de um aminoácido correspondente natural, bem como a polímeros de aminoácidos naturais e a um polímero de aminoácidos de ocorrência não natural.

[00348] Como utilizado neste documento, o termo "prevenção", quando usado em relação a uma condição, refere-se à administração de uma composição que reduz a frequência ou atrasa o aparecimento de sintomas de uma condição médica em um indivíduo em relação a um indivíduo que não receber a composição.

[00349] Como utilizado neste documento, o termo "purificado" ou "isolado" aplicado a qualquer das proteínas (anticorpos ou fragmentos) aqui descritas refere-se a um polipeptídeo que foi separado ou purificado de componentes (por exemplo, proteínas ou outras moléculas biológicas ou orgânicas de ocorrência natural) que o acompanham naturalmente, por exemplo, outras proteínas, lipídeos e ácido nucleico em um procariota que expressa as proteínas. Tipicamente, um polipeptídeo é purificado quando constitui pelo menos

60 (por exemplo, pelo menos 65, 70, 75, 80, 85, 90, 92, 95, 97 ou 99) %, em peso, da proteína total numa amostra.

[00350] Como utilizado neste documento, o termo "Proteína de Morte Celular Programada 1" ou "PD-1" refere-se ao polipeptídeo da Proteína de Morte Celular Programada 1, um receptor inibidor imune pertencente à família CD28 e é codificado pelo gene PDCD1 em humanos. Nomes alternativos ou sinônimos para PD-1 incluem: PDCD1, PD1, CD279 e SLEB2. PD-1 é expresso predominantemente em células T previamente ativadas, células B e células mieloides in vivo e se liga a dois ligandos, PD-L1 e PD-L2. O termo "PD-1", como utilizado neste documento, inclui PD-1 humano (hPD-1), variantes, isoformas e homólogos de espécies de hPD-1 e análogos com pelo menos um epítopo comum com hPD-1. A sequência completa do hPD-1 pode ser encontrada no No. de Acessão GenBank AAC51773.

[00351] Como utilizado neste documento, o termo "Ligando de Morte Programada-1" ou "PD-L1" é um dos dois ligandos de glicoproteína da superfície celular para PD-1 (o outro sendo PD-L2) que suprarregula a ativação de células T e a secreção de citocinas após a ligação a PD-1. Nomes e sinônimos alternativos para PD-L1 incluem: PDCD1L1, PDL1, B7H1, B7-4, CD274 e B7-H. O termo "PD-L1", como utilizado neste documento, inclui PD-L1 humano (hPD-L1), variantes, isoformas e homólogos de espécies de hPD-L1 e análogos com pelo menos um epítopo comum com hPD-L1. A sequência completa do hPD-L1 pode ser encontrada no No. de Acessão GenBank Q9NZQ7.

[00352] A PD-1 é conhecida como uma proteína inibitória imune que suprarregula os sinais de TCR (Ishida, Y. et al. (1992) EMBO J. 11:3887-3895; Blank, C. et al. (Epub 2006 Dec. 29) Immunol. Immunother. 56(5):739-745). A interação entre PD-1 e PD-L1 pode atuar como um ponto de verificação imune, o que pode levar a uma

diminuição na proliferação mediada pelo receptor de células T (Dong et al. (2003) J. Mol. Med. 81:281-7; Blank et al. (2005) Cancer Immunol. Immunother. 54:307-314; Konishi et al. (2004) Clin. Cancer Res. 10:5094-100). A supressão imunológica pode ser revertida inibindo a interação local de PD-1 com PD-L1 ou PD-L2; o efeito é aditivo quando a interação de PD-1 com PD-L2 também é bloqueada (Iwai et al. (2002) Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 99:12293-7; Brown et al. (2003) J. Immunol. 170:1257-66).

[00353] Para vários tipos de câncer, a sobrevida e proliferação do tumor são sustentadas pela modulação do ponto de verificação imune mediada por tumor. Essa modulação pode resultar na interrupção das funções do sistema imunológico anticâncer. Por exemplo, estudos recentes indicaram que a expressão de ligandos de receptores de ponto de verificação imune, como PD-L1 ou PD-L2, por células tumorais, pode diminuir a atividade do sistema imune no microambiente tumoral e promover a evasão imunológica do câncer suprimindo particularmente células T. PD-L1 é abundantemente expresso por uma variedade de cânceres humanos (Dong et al., (2002) Nat Med 8:787-789). O receptor para PD-L1, PD-1, é expresso em linfócitos (por exemplo, células T ativadas) e normalmente está envolvido na suprarregulação do sistema imunológico e na promoção da auto-tolerância, principalmente pela supressão de células T. No entanto, quando os receptores PD-1 expressos nas células T se ligam aos ligandos PD-L1 cognatos nas células tumorais, a supressão resultante das células T contribui para uma resposta imune prejudicada contra o tumor (por exemplo, uma diminuição dos linfócitos infiltrados no tumor ou o estabelecimento de evasão imune por células cancerígenas).

[00354] Em grandes conjuntos de amostras de, por exemplo, câncer de ovário, renal, colorretal, pancreático, hepático e melanoma,

foi demonstrado que a expressão de PD-L1 se correlacionava com um mau prognóstico e reduzia a sobrevida global, independentemente do tratamento subsequente (ver, por exemplo, Dong et al., (2002) Nat Med 8(8):793-800; Yang et al., (2008) Invest Ophthalmol Vis Sci 49(6):2518-2525; Ghebeh et al., (2006) Neoplasia 8:190-198; Hamanishi et al., (2007) Proc Nat Acad Sci USA 104:3360-3365; Thompson et al., (2006) Clin Genitourin Cancer 5:206-211; Nomi et al., (2005) Clin Cancer Res 11:2947-2953; Inman et al., (2007) Cancer 109:1499-1505; Shimauchi et al., (2007) Int J Cancer 121:2585-2590; Gao et al., (2009) Clin Cancer Res 15:971-979; Nakanishi et al., (2007) Cancer Immunol Immunother 56:1173-1182; Hino et al., (2010) Cancer 116(7):1757-1766). Da mesma forma, verificou-se que a expressão de PD-1 em linfócitos tumorais marca células T disfuncionais no câncer de mama (Kitano et al., (2017) ESMO Open 2(2):e000150) and melanoma (Kleffel et al., (2015) Cell 162(6):1242-1256). Antagonistas de PD-1, como aqueles que afetam a função do eixo de sinalização PD-1/PD-L1/PD-L2 e/ou interrompem a interação entre PD-1 e PD-L1 e/ou PD-L2, por exemplo, foram desenvolvidos e representam uma nova classe de inibidores antitumorais que funcionam via modulação da interação célula imune-célula tumoral.

[00355] Como utilizado neste documento, o termo "rearranjado" refere-se a uma configuração de um locus de imunoglobulina de cadeia pesada ou cadeia leve, em que um segmento V é posicionado imediatamente adjacente a um segmento D-J ou J em uma conformação que codifica essencialmente um domínio VH ou VL completo, respectivamente. Um locus de gene de imunoglobulina reorganizado pode ser identificado por comparação com o DNA da linhagem germinativa; um locus reorganizado terá pelo menos um elemento de homologia heptâmero/nonâmero recombinado.

[00356] Como utilizado neste documento, o termo "célula

hospedeira recombinante" (ou simplesmente "célula hospedeira") pretende se referir a uma célula na qual um vetor de expressão recombinante foi introduzido. Deve-se entender que tais termos se referem não apenas à célula em questão, mas também à descendência de uma célula. Como certas modificações podem ocorrer nas gerações seguintes devido a mutações ou influências ambientais, essa descendência não pode, de fato, ser idêntica à célula-mãe, mas ainda está incluída no escopo do termo "célula hospedeira", como utilizado neste documento.

[00357] Como utilizado neste documento, o termo "anticorpo humano recombinante" inclui todos os anticorpos humanos que são preparados, expressos, criados ou isolados por meios recombinantes, como (a) anticorpos isolados de um animal (por exemplo, um camundongo) que é transgênico ou transcromossômico para genes de imunoglobulina humana ou um hibridoma preparado a partir do mesmo, (b) anticorpos isolados de uma célula hospedeira transformada para expressar o anticorpo, por exemplo, de um transfectoma, (c) anticorpos isolados de uma biblioteca combinatória de anticorpos humanos recombinantes e (d) anticorpos preparados, expressos, criados ou isolados por qualquer outro meio que envolva a junção de sequências de genes de imunoglobulina humana a outras sequências de DNA. Tais anticorpos humanos recombinantes compreendem regiões variáveis e constantes que utilizam determinadas sequências de imunoglobulina da linhagem germinativa humana são codificadas pelos genes da linhagem germinativa, mas incluem rearranjos e mutações subsequentes que ocorrem, por exemplo, durante a maturação do anticorpo. Como conhecido na técnica (ver, por exemplo, Lonberg (2005) Nature Biotech. 23(9): 1117-1125), a região variável contém o domínio de ligação ao antígeno, que é codificado por vários genes que se reorganizam para formar um

anticorpo específico para um antígeno estranho. Além do rearranjo, a região variável pode ser modificada ainda mais por múltiplas alterações simples de aminoácidos (denominadas mutação somática ou hipermutação) para aumentar a afinidade do anticorpo com o antígeno estranho. A região constante mudará em resposta adicional a um antígeno (isto é, troca de isótipo). Portanto, as moléculas de ácido nucleico reorganizadas e somaticamente mutadas que codificam os polipeptídeos da imunoglobulina de cadeia leve e de cadeia pesada em resposta a um antígeno não podem ter identidade de sequência com as moléculas originais do ácido nucleico, mas serão substancialmente idênticas ou semelhantes (isto é, possuem pelo menos 80% de identidade).

[00358] Como utilizado neste documento, o termo "anticorpo de referência" (usado de forma intercambiável com "mAb de referência") ou "proteína de ligação ao antígeno de referência" refere-se a um anticorpo, ou um fragmento de ligação ao antígeno, que se liga a um epítopo específico em CD39 e é usado para estabelecer uma relação entre si e um ou mais anticorpos distintos, em que a relação é a ligação do anticorpo de referência e os um ou mais anticorpos distintos ao mesmo epítopo em CD39. Como usado aqui, o termo conota um anticorpo anti-CD39 que é útil em um teste ou ensaio, como os aqui descritos (por exemplo, um ensaio de ligação competitiva), como concorrente, em que o ensaio é útil para a descoberta, identificação ou desenvolvimento, de um ou mais anticorpos distintos que se ligam ao mesmo epítopo. As sequências de aminoácidos variáveis de cadeia pesada (VH) e de cadeia leve (VL) de um anticorpo de referência exemplificativo (SRF367) são fornecidas na Tabela 1 (VH, SEQ ID NO. 33; VL, SEQ ID NO. 43).

[00359] Como utilizado neste documento, os termos "ligação específica", "ligação seletiva", "liga seletivamente" e "liga-se

especificamente", referem-se à ligação de anticorpos a um epítopo em um antígeno predeterminado. Normalmente, o anticorpo se liga a uma constante de dissociação de equilíbrio (KD) de aproximadamente menos que 10^{-6} M, como aproximadamente $10^{-7,}$ 10^{-8} M, 10^{-9} M ou 10^{-10} M ou ainda menor quando determinado por tecnologia de ressonância plasmônica de superfície (SPR) em um instrumento BIACORE 2000 usando CD39 humano recombinante como analito e o anticorpo como ligando e se liga ao antígeno predeterminado com uma afinidade que é pelo menos duas vezes maior do que sua afinidade para ligação a um antígeno não específico (por exemplo, BSA, caseína) diferente do antígeno predeterminado ou um antígeno intimamente relacionado. As frases "um anticorpo que reconhece um antígeno" e "um anticorpo específico para um antígeno" e "um anticorpo que se liga" são usadas aqui de forma intercambiável com o termo "um anticorpo que se liga especificamente a um antígeno", como CD39.

[00360] Como utilizado neste documento, o termo "sequência de troca" refere-se às sequências de DNA responsáveis pela recombinação da troca. Uma sequência de "doador de troca", normalmente uma μ região de switch, será 5' (isto é, a montante) da região de construção a ser excluída durante a recombinação de troca. A região de "aceitador de troca" estará entre a região de construto a ser excluída e a região constante de substituição (por exemplo, γ, ε, etc.). Como não há sítio específico onde a recombinação sempre ocorra, a sequência final do gene normalmente não será previsível a partir do construto.

[00361] Como utilizado neste documento, o termo "indivíduo" inclui qualquer animal humano ou não humano. Por exemplo, os métodos e composições da presente invenção podem ser utilizados para tratar um indivíduo com um distúrbio imunológico. O termo "animal não

humano" inclui todos os vertebrados, por exemplo, mamíferos e não mamíferos, como primatas não humanos, ovelhas, cães, vacas, galinhas, anfíbios, répteis, etc.

[00362] Para ácidos nucleicos, o termo "homologia substancial" indica que dois ácidos nucleicos, ou sequências designadas dos mesmos, quando alinhados e comparados de maneira ideal, são idênticos, com inserções ou deleções de nucleotídeos apropriadas, em pelo menos cerca de 80% dos nucleotídeos, geralmente pelo menos cerca de 90% a 95%, e mais preferencialmente pelo menos cerca de 98% a 99,5% dos nucleotídeos. Alternativamente, existe uma homologia substancial quando os segmentos hibridam sob condições de hibridação seletiva, para o complemento da cadeia.

[00363] A identidade porcentual entre duas sequências é uma função do número de posições idênticas compartilhadas pelas sequências (ou seja, % homologia = # de posições idênticas/# total de posições x 100), levando em consideração o número de folgas e o comprimento de cada folga, que precisa ser introduzida para o alinhamento ideal das duas sequências. A comparação de sequências e a determinação da identidade porcentual entre duas sequências podem ser realizadas usando um algoritmo matemático, conforme descrito nos exemplos não limitativos abaixo.

[00364] A identidade porcentual entre duas sequências de nucleotídeos pode ser determinada usando o programa GAP no pacote de software GCG (disponível em http://www.gcg.com), usando uma matriz NWSgapdna.CMP e uma diferença de peso de 40, 50, 60, 70 ou 80 e um peso de comprimento de 1, 2, 3, 4, 5 ou 6. A identidade porcentual entre duas sequências de nucleotídeos ou aminoácidos também pode ser determinada usando o algoritmo de E. Meyers e W. Miller (CABIOS, 4: 11-17 (1989)), que foi incorporado ao programa ALIGN (versão 2.0), usando uma tabela de resíduos de peso PAM120,

uma penalidade de comprimento de folga 12 e uma penalidade de folga de 4. Além disso, a identidade porcentual entre duas sequências de aminoácidos pode ser determinada usando o Needleman e Wunsch (J. Mol. Biol. (48): 444-453 (1970)), que foi incorporado ao programa GAP no pacote de software GCG (disponível em http://www.gcg.com), usando uma matriz Blossum 62 ou uma matriz PAM250, e um peso de folga de 16, 14, 12, 10, 8, 6 ou 4 e um peso de comprimento de 1, 2, 3, 4, 5 ou 6.

[00365] As sequências de ácido nucleico e proteína da presente divulgação podem ainda ser usadas como uma "sequência de consulta" para executar uma pesquisa em bancos de dados públicos para, por exemplo, identificar sequências relacionadas. Essas pesquisas podem ser realizadas usando os programas NBLAST e XBLAST (versão 2.0) de Altschul, et al. (1990) J. Mol. Biol. 215:403-10. As pesquisas de nucleotídeos BLAST podem ser realizadas com o programa NBLAST, pontuação = 100, wordlength = 12, para obter sequências nucleotídicas homólogas às moléculas de ácido nucleico da invenção. Pesquisas de proteína BLAST podem ser realizadas com o programa XBLAST, pontuação = 50, wordlength = 3 para obter sequências de aminoácido homólogas para as moléculas de proteína da invenção. Para obter alinhamentos com folgas para fins de comparação, o Gapped BLAST pode ser utilizado como descrito em Altschul et al., (1997) Nucleic Acids Res. 25 (17): 3389-3402. Ao utilizar programas BLAST e Gapped BLAST, os parâmetros padrões dos respectivos programas (por exemplo, XBLAST e NBLAST) podem ser usados. Veja http://www.ncbi.nlm.nih.gov.

[00366] Os ácidos nucleicos podem estar presentes em células inteiras, em um lisado celular ou em uma forma parcialmente purificada ou substancialmente pura. Um ácido nucleico é "isolado" ou "tornado substancialmente puro" quando purificado para longe de

outros componentes celulares ou outros contaminantes, por exemplo, outros ácidos nucleicos ou proteínas celulares, por técnicas padrão, incluindo tratamento alcalino/SDS, bandas de CsCl, cromatografia em coluna, agarose eletroforese em gel e outros bem conhecidos na técnica. Ver, F. Ausubel, et al., ed. Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York (1987).

[00367] As composições de ácido nucleico da presente divulgação, embora frequentemente em uma sequência nativa (exceto sítios de restrição modificados e semelhantes), de cDNA, genômico ou misturas dos mesmos podem ser mutadas, de acordo com técnicas padrão para fornecer sequências genéticas. Para sequências de codificação, essas mutações podem afetar a sequência de aminoácidos conforme desejado. Em particular, são contempladas sequências de DNA substancialmente homólogas ou derivadas de comutadores V, D, J, constantes nativas e outras sequências descritas neste documento (onde "derivado" indica que uma sequência é idêntica ou modificada a partir de outra sequência).

[00368] O termo "célula T" refere-se a um tipo de glóbulo branco que pode ser diferenciado de outros glóbulos brancos pela presença de um receptor de célula T na superfície celular. Existem vários subconjuntos de células T, incluindo, entre outros, células T auxiliares (também conhecidas como células TH ou células T CD4+) e subtipos, incluindo células TH1, TH2, TH3, TH17, TH9 e TFH, células T citotóxicas (também conhecidas como células TC, células T CD8+, linfócitos T citotóxicos, células T-assassinas, células T assassinas), células T de memória e subtipos, incluindo células T de memória central (células TCM), células T de memória efetora (células TEM e TEMRA) e células T de memória residentes (células TRM), células T regulatórias (também conhecidas como células Treg ou células T supressoras) e subtipos, incluindo células CD4+FOXP3+Tregs, células

CD4+FOXP3-Treg, células Tr1, células Th3 e células Treg17, células T assassinas naturais (também conhecidas como células NKT), células T invariantes associadas à mucosa (MAITs) e células T gama delta (células T γδ), incluindo células T Vγ9/Vδ2. Qualquer uma ou mais das células T mencionadas ou não mencionadas pode ser o tipo de célula alvo para um método de uso da invenção.

[00369] Como utilizado neste documento, o termo "resposta mediada por células T" refere-se a qualquer resposta mediada por células T, incluindo, mas não se limitando a, células T efetoras (por exemplo, células CD8+) e células T auxiliares (por exemplo, células CD4+). As respostas mediadas por células T incluem, por exemplo, citotoxicidade e proliferação de células T.

[00370] Como utilizado neste documento, os termos "quantidade terapeuticamente eficaz" ou "dose terapeuticamente eficaz", ou termos semelhantes usados aqui, significam uma quantidade de um agente (por exemplo, um anticorpo anti-CD39 ou um fragmento de ligação a antígeno) que irá provocar a resposta biológica ou médica desejada (por exemplo, uma melhoria em um ou mais sintomas de um câncer).

[00371] Os termos "tratar", "tratando" e "tratamento" se referem à intervenção clínica na tentativa de alterar o curso natural do indivíduo sendo tratado e podem ser realizados para profilaxia ou durante o curso da patologia clínica. Os efeitos desejáveis do tratamento incluem, mas não estão limitados a, prevenção da ocorrência ou recorrência da doença, alívio dos sintomas, diminuição de quaisquer consequências patológicas diretas ou indiretas da doença, prevenção de metástases, diminuição da taxa da progressão da doença, melhora ou paliação do estado da doença, e remissão ou melhor prognóstico. Em algumas modalidades, anticorpos da invenção são usados para atrasar desenvolvimento de uma doença ou para retardar a progressão de uma doença. Em algumas modalidades, o tratamento

conforme aqui utilizado, refere-se a medidas terapêuticas ou preventivas. Os métodos de "tratamento" empregam a administração a um indivíduo, em necessidade de tal tratamento, um anticorpo humano da presente divulgação, por exemplo, um indivíduo em necessidade de uma resposta imune intensificada contra um antígeno específico ou um indivíduo que possa finalmente adquirir um tal distúrbio, a fim de prevenir, curar, atrasar, reduzir a gravidade ou melhorar um ou mais sintomas do distúrbio ou distúrbio recorrente, ou para prolongar a sobrevida de um indivíduo além do esperado na ausência de tal tratamento.

[00372] Como utilizado neste documento, o termo "microambiente tumoral" (alternativamente "microambiente cancerígeno"; TME abreviado) refere-se ao ambiente celular ou ambiente em que o tumor ou neoplasia existe, incluindo vasos sanguíneos circundantes, bem como células não cancerígenas, incluindo, mas não limitado a células imunes, fibroblastos, células inflamatórias derivadas da medula óssea e linfócitos. As moléculas sinalizadoras e a matriz extracelular também compreendem o TME. O tumor e o microambiente circundante estão intimamente relacionados e interagem constantemente. Os tumores podem influenciar o microambiente liberando sinais extracelulares, promovendo a angiogênese tumoral e induzindo tolerância imune periférica, enquanto as células imunes no microambiente podem afetar o crescimento e a evolução das células tumorais.

[00373] Como utilizado neste documento, o termo "configuração não rearranjada" ou "linhagem germinativa" refere-se a um segmento V refere-se à configuração em que o segmento V não é recombinado de modo a ser imediatamente adjacente a um segmento D ou J.

[00374] Como utilizado neste documento, o termo "vetor" pretende se referir a uma molécula de ácido nucleico capaz de transportar outro ácido nucleico ao qual foi ligado. Um tipo de vetor é um "plasmídeo",

que se refere a uma alça de DNA de fita dupla circular na qual segmentos de DNA adicionais podem ser ligados. Outro tipo de vetor é um vetor viral, em que segmentos de DNA adicionais podem ser ligados no genoma viral. Certos vetores são capazes de replicação autônoma em uma célula hospedeira em que eles são introduzidos (por exemplo, vetores bacterianos, tendo uma origem bacteriana da replicação e vetores de mamíferos episssômicos). Outros vetores (por exemplo, vetores de mamíferos não episssômicos) podem ser integrados ao genoma de uma célula hospedeira mediante introdução à célula hospedeira, e assim são replicados juntamente com o genoma hospedeiro. Além disso, certos vetores são capazes de direcionar a expressão de genes aos quais estão ligados operativamente. Tais vetores são referidos aqui como "vetores de expressão recombinantes" (ou simplesmente "vetores de expressão"). Em geral, os vetores de expressão úteis em técnicas de DNA recombinante estão frequentemente na forma de plasmídeos. No presente relatório descritivo, "plasmídeo" e "vetor" podem ser utilizados de forma intercambiável, pois o plasmídeo é a forma de vetor mais comumente usada. No entanto, a invenção pretende incluir outras formas de vetores de expressão, como vetores virais (por exemplo, retrovírus com defeito de replicação, adenovírus e vírus adeno-associados), que servem funções equivalentes.

[00375] Salvo definição em contrário, todos os termos técnicos e científicos utilizados neste documento têm o mesmo significado como comumente entendido por um versado na técnica à qual esta divulgação pertence. Métodos e materiais preferidos são descritos a seguir, embora métodos e materiais semelhantes ou equivalentes aos descritos neste documento também possam ser usados na prática ou no teste dos métodos e das composições presentemente divulgados. Todas as publicações, pedidos de patentes, patentes e outras

referências mencionadas neste documento estão incorporadas para referência em suas totalidades.

Anticorpos Anti-CD39 e fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos

[00376] A presente divulgação fornece anticorpos e porções de ligação ao antígeno dos mesmos que se ligam e antagonizam CD39, em particular CD39 humano. São aqui fornecidos anticorpos isolados ou porção de ligação ao antígeno dos mesmos que se ligam a CD39 humano, compreendendo CDRs de cadeia pesada e leve e sequências variáveis, conforme estabelecido na Tabela 1.

[00377] A via da adenosina é um sistema de sinalização que atua para ajustar as funções celulares imunes, como interações célula a célula, secreção de citocinas e quimiocinas, liberação de antígenos de superfície, remoção de patógenos intracelulares e remoção de espécies reativas de oxigênio (ROS). ATP e ADP, desempenham um papel fundamental na inflamação, regulação do sistema imunológico e homeostase tecidual através da ativação de receptores (Eltzschig et al., (2012) N Engl J Med 367:2322-2333). Mediadores, como ATP e adenosina, são liberados no espaço extracelular em resposta a distúrbios metabólicos ou outros tipos de insultos, e operam como sinais sensoriais e eferentes para moldar as respostas imunes. O ATP é liberado por lise celular ou por mecanismos não líticos, incluindo: (i) exocitose de vesículas contendo ATP, (ii) através de canais permeáveis a nucleotídeos (hemicanais de conexina/panexina, canais maxi-ânion, canais aniônicos regulados por volume ou canais receptores P2X7), (iii) via vesículas de transporte que distribuem proteínas à membrana celular e (iv) via lisossomos. O CD39 hidrolisa adenosina trifosfato extracelular (ATP) e difosfato de adenosina (ADP) para gerar adenosina.

[00378] A família de receptores de adenosina P1 engloba os

receptores A1, A2A (o principal receptor de adenosina expresso por células T), A2B e acoplados à proteína G A3. O eixo receptor da adenosina-A2A fornece um mecanismo imunossupressor que amortece a inflamação e protege os tecidos normais dos danos mediados pelo sistema imunológico Ohta et al., (2001) Nature 414: 916-920). Em alguns cânceres, essa via imunossupressora é ativamente aberrante e fornece proteção para as células cancerígenas contra o sistema imunológico (Sitkovsky et al., (2014) Cancer Immunol Res) 2:598-605). A ativação dessa via e o acúmulo de adenosina extracelular nos tumores geram um nicho imunossupressor e pró-angiogênico favorável ao crescimento do tumor (Antonioli et al., (2013) Nat Rev Cancer 13:842-857; Stagg and Smith (2010) Oncogene 29:5346-5358; Sitkovsky et al., (2008) Clin Cancer Res 14:5947-5952; Muller-Haegele et al., (2014) Expert Rev Clin Immunol 10:897-914; Antonioli et al., (2013) Trends Mol Med 19:355-367). O principal papel dessa via na promoção do câncer é evidenciado pela rejeição completa de grandes tumores imunogênicos em camundongos com deficiência de A2AR (Ohta et al., (2006) Proc Natl Acad Sci USA 103: 13132-13137), bem como o fenótipo resistente a tumor de CD39 Sun et al., (2010) Gastroenterology 139: 1030-1040).

[00379] Dentro da via, CD39 (também conhecido como ecto-nucleosídeo trifosfato difosfohidrolase 1, E-NTPDase1 e agrupamento de diferenciação 39) e CD73 (também conhecido como ecto-5'-nucleotidase, Ecto5'NTase, 5'-nucleotidase (5'-NT) e agrupamento de diferenciação 73), são as principais enzimas metabolizadoras de nucleotídeos que regulam a imunidade e a inflamação. A atividade de CD39 e CD73 representa a fonte primária de adenosina extracelular. CD39 hidrolisa ATP e ADP extracelulares em adenosina monofosfato (AMP) (Deaglio et al., (2007) J Exp Med 204:1257-1265; Borsellino et al., (2007) Blood 110:1225-1232). O AMP é então processado na

adenosina anti-inflamatória, essencialmente pela ectonucleotidase CD73. Após a ligação aos receptores A2A nas células T, a adenosina induz o acúmulo de AMP cíclico intracelular, impedindo a sobrerregulação de CD25 induzida por TCR e inibindo a proliferação de linfócitos T efetores e a secreção inflamatória de citocinas (Huang et al., (1997) Blood 90-1600-1610; Lokshin et al., (2006) Cancer Res 66:7758-7765). A adenosina também bloqueia a atividade citotóxica e a produção de citocinas das células assassinas naturais (NK) ativadas.

[00380] Por conseguinte, a divulgação fornece um anticorpo isolado que se liga a e antagoniza CD39 humano, ou uma porção de ligação ao antígeno do mesmo, em que o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo exibe pelo menos uma ou mais das seguintes propriedades: (i) se liga a CD39 humano recombinante e/ou CD39 humano ligado à membrana; (ii) liga-se a CD39 com uma constante de dissociação de equilíbrio (KD) inferior a 10 nM; (iii) inibe ou reduz uma atividade enzimática de CD39; (iv) inibe ou reduz a conversão de adenosina trifosfato extracelular (eATP) ou adenosina difosfato extracelular (eADP) em adenosina monofosfato extracelular (eAMP); (v) aumenta ou intensifica um nível de trifosfato de adenosina extracelular (eATP); (vi) diminui ou reduz um nível de adenosina extracelular; (vii) mantém, aumenta ou intensifica um nível imunoestimulatório de trifosfato de adenosina extracelular (eATP); (viii) aumenta ou intensifica a proliferação de um linfócito; (ix) aumenta ou intensifica a expressão de um ou mais marcadores de ativação de células dendríticas; (x) aumenta ou intensifica a secreção de uma ou mais citocinas das células dendríticas; (xi) aumenta ou intensifica a infiltração de macrófagos nos tumores; (xii) aumenta ou intensifica a secreção de macrófagos que atraem quimiocinas; (xiii) antagoniza CD39 humano em um microambiente tumoral de um tecido; (xiv) reage de forma cruzada com o CD39 cynomolgus e/ou CD39 de

camundongo; ou (xv) uma combinação de qualquer um de (i) - (xiv).

[00381] Em algumas modalidades, o anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, se liga a CD39 recombinante e/ou CD39 ligado à membrana. Em algumas modalidades, o anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, se liga a CD39 humano recombinante e/ou CD39 humano ligado à membrana.

[00382] Em algumas modalidades, o anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, se liga a CD39 com uma constante de dissociação de equilíbrio (KD) inferior a 10 nM.

[00383] Em algumas modalidades, o anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, inibe ou reduz uma atividade enzimática do CD39.

[00384] Em algumas modalidades, o anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, inibe ou reduz a atividade enzimática de CD39, em que a atividade enzimática de CD39 é a hidrólise de trifosfato de adenosina extracelular (eATP) ou difosfato de adenosina extracelular (eADP).

[00385] Em algumas modalidades, o anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, inibe ou reduz a conversão de trifosfato de adenosina extracelular (eATP) ou difosfato de adenosina extracelular (eADP) em monofosfato de adenosina extracelular (eAMP).

[00386] Em algumas modalidades, o anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, aumenta ou intensifica um nível de trifosfato de adenosina extracelular (eATP).

[00387] Em algumas modalidades, o anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, diminui ou reduz um nível de adenosina extracelular.

[00388] Em algumas modalidades, o anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, aumenta ou intensifica um nível

imunoestimulatório de trifosfato de adenosina extracelular (eATP).

[00389] Em algumas modalidades, o anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, aumenta a proliferação de um linfócito. Em algumas modalidades, o linfócito é um linfócito infiltrador de tumor. Em algumas modalidades, o linfócito é uma célula T. Em algumas modalidades, a célula T é uma célula T CD4+.

[00390] Em algumas modalidades, o anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, intensifica a expressão de um ou mais marcadores de ativação de células dendríticas. Em algumas modalidades, os um ou mais marcadores de ativação de células dendríticas é CD86, HLA-DR ou uma combinação dos mesmos.

[00391] Em algumas modalidades, o anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, aumenta a secreção de uma ou mais citocinas das células dendríticas. Em algumas modalidades, a uma ou mais citocinas é IL-16, IL-12/IL-23p40, VEGFA ou qualquer combinação das mesmas.

[00392] Em algumas modalidades, o anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, aumenta ou intensifica a infiltração de macrófagos nos tumores.

[00393] Em algumas modalidades, o anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, aumenta ou intensifica a secreção de quimiocinas que atraem macrófagos.

[00394] Em algumas modalidades, o anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, antagoniza o CD39 humano em um microambiente tumoral.

[00395] Em algumas modalidades, o anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, reage de forma cruzada com o CD39 cynomolgus e/ou CD39 de camundongo.

[00396] Em algumas modalidades, o anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, é selecionado do grupo que

consiste em um anticorpo IgG1, IgG2 e IgG3, IgG4 e IgM e IgA1 e IgA2 e IgD e IgE.

[00397] Em algumas modalidades, o anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, é um anticorpo IgG1 do anticorpo IgG4.

[00398] Em algumas modalidades, o anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, compreende uma região constante de cadeia pesada de IgG1 do tipo selvagem.

[00399] Em algumas modalidades, o anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, compreende uma região constante de cadeia pesada de IgG4 do tipo selvagem.

[00400] Em algumas modalidades, o anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, compreende um domínio Fc compreendendo pelo menos uma mutação.

[00401] Em algumas modalidades, o anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, compreende uma região constante de cadeia pesada de IgG1 mutante.

[00402] Em algumas modalidades, o anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, compreende uma região constante de cadeia pesada de IgG4 mutante. Em algumas modalidades, a região constante de cadeia pesada de IgG4 mutante compreende qualquer uma das substituições S228P, L235E, L235A ou uma combinação dos mesmos, de acordo com a numeração da UE.

[00403] Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação compreende a sequência CDR3 de cadeia pesada estabelecida na SEQ ID NO: 3. Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga substancialmente ao mesmo epítopo que um anticorpo de referência ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, compreendendo a sequência CDR3 de cadeia pesada estabelecida na

SEQ ID NO: 3. Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a pelo menos um dos resíduos de aminoácidos ligados por um anticorpo de referência ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, compreendendo a sequência CDR3 de cadeia pesada estabelecida nas SEQ ID NOs: 3. Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação, em que uma mutação do epítopo ligado ao anticorpo inibe, reduz ou bloqueia a ligação ao anticorpo e a um anticorpo de referência ou uma porção de ligação ao antígeno do mesmo compreendendo a sequência CDR3 de cadeia pesada estabelecida nas SEQ ID NOs: 3.

[00404] Em algumas modalidades, a porção de ligação ao anticorpo ou antígeno da divulgação se liga substancialmente ao mesmo epítopo que um anticorpo de referência ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, compreendendo as sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 27, 28 e 29, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 37, 38 e 39, respectivamente. Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a pelo menos um dos resíduos de aminoácidos ligados por um anticorpo de referência ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, compreendendo as sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 27, 28 e 29, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 37, 38 e 39, respectivamente. Em algumas modalidades, uma mutação do epítopo ligado ao anticorpo ou porção de ligação ao antígeno da divulgação inibe, reduz ou bloqueia a ligação ao anticorpo e a um anticorpo de referência ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreendendo sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada

estabelecidas nas SEQ ID NOs: 27, 28 e 29, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 37, 38 e 39, respectivamente.

[00405] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga substancialmente ao mesmo epítopo que um anticorpo de referência ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, compreendendo as sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 30, 31 e 32, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 40, 41 e 42, respectivamente.

[00406] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a pelo menos um dos resíduos de aminoácidos ligados por um anticorpo de referência ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, compreendendo as sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 30, 31 e 32, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 40, 41 e 42, respectivamente.

[00407] Em algumas modalidades, uma mutação do epítopo ligado ao anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação inibe, reduz ou bloqueia a ligação ao anticorpo e a um anticorpo de referência ou porção de ligação ao antígeno do mesmo compreendendo sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 31, 31 e 32, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 40, 41 e 42, respectivamente.

[00408] Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende CDRs das cadeias pesada e leve selecionadas do grupo que consiste em:

(i) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 27, 28 e 29, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 37, 38 e 39, respectivamente;

(ii) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 1, 2 e 3, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 11, 12 e 13, respectivamente;

(iii) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 53, 54 e 55, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 63, 64 e 65, respectivamente;

(iv) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 79, 80 e 81, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 89, 90 e 91, respectivamente; e

(v) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 105, 106 e 107, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 115, 116 e 117, respectivamente.

[00409] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende CDRs de cadeia pesada e leve, em que as sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada são estabelecidas nas SEQ ID NOs: 27, 28 e 29, respectivamente, e as sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve são estabelecidas nas SEQ ID NOs: 37, 38 e 39, respectivamente.

[00410] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende CDRs das cadeias pesada e leve selecionadas

do grupo que consiste em:

(i) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 30, 31, e 32, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 40, 41 e 42, respectivamente;

(ii) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 4, 5, e 6, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 14, 15 e 16, respectivamente;

(iii) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 56, 57 e 58, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 66, 67 e 68, respectivamente;

(iv) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 82, 83, e 84, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 92, 93 e 94, respectivamente; e

(v) sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada estabelecidas nas SEQ ID NOs: 108, 109 e 110, respectivamente, e sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve estabelecidas nas SEQ ID NOs: 118, 119 e 120, respectivamente.

[00411] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende CDRs de cadeia pesada e leve, em que as sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada são estabelecidas nas SEQ ID NOs: 30, 31 e 32, respectivamente, e as sequências CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve são estabelecidas nas SEQ ID NOs: 40, 41 e 42, respectivamente.

[00412] Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39

humano e compreende regiões variáveis de cadeia pesada e leve, em que a região variável de cadeia pesada compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NOs: 33, 7, 59, 85 e 111; e em que a região variável de cadeia leve compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 43, 17, 69, 95 e 121.

[00413] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano antagonista e compreende regiões variáveis de cadeia pesada e leve compreendendo sequências de aminoácidos selecionadas do grupo que consiste em:

(i) SEQ ID NO: 33 e 43, respectivamente;

(ii) SEQ ID NO: 7 e 17, respectivamente;

(iii) SEQ ID NO: 59 e 69, respectivamente;

(iv) SEQ ID NO: 85 e 95, respectivamente; e

(v) SEQ ID NO: 111 e 121, respectivamente.

[00414] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende regiões variáveis de cadeia pesada e leve compreendendo sequências de aminoácidos estabelecidas em SEQ ID NO: 33 e 43, respectivamente.

[00415] Em alguns aspectos, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende regiões variáveis de cadeia pesada e leve, em que a região variável de cadeia pesada compreende uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, pelo menos 99% idêntica à sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 33, 7, 59, 85 e 111; e em que a região variável de cadeia leve compreende uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 90%, pelo menos

95%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, pelo menos 99% idêntica à sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NOs: 43, 17, 69, 95 e 121.

[00416] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a um CD39 humano antagonista e compreende regiões variáveis de cadeia pesada e leve compreendendo sequências de aminoácidos pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98% , pelo menos 99% idênticas às sequências de aminoácidos selecionadas do grupo que consiste em:

(i) SEQ ID NO: 33 e 43, respectivamente;

(ii) SEQ ID NO: 7 e 17, respectivamente;

(iii) SEQ ID NO: 59 e 69, respectivamente;

(iv) SEQ ID NO: 85 e 95, respectivamente; e

(v) SEQ ID NO: 111 e 121, respectivamente.

[00417] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga e antagoniza CD39 humano e compreende regiões variáveis de cadeia pesada e leve compreendendo sequências de aminoácidos pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, pelo menos 99% idênticas às sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID NO: 33 e 43, respectivamente.

[00418] Em algumas modalidades, a porção de ligação ao anticorpo ou antígeno da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve, em que a cadeia pesada compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 35 9, 61, 87 e 113; e em que a cadeia leve compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 45, 19, 71, 97 e 123.

[00419] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação

ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve, em que a cadeia pesada compreende uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, pelo menos 99% idêntica à sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NOs: 35, 9, 61, 87 e 113; e em que a cadeia leve compreende uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, pelo menos 99% à sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NOs : 45, 19, 71, 97 e 123.

[00420] Em algumas modalidades, a porção de ligação ao anticorpo ou antígeno da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve, em que a cadeia pesada compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 47, 21, 73, 99, e 125; e em que a cadeia leve compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 45, 19, 71, 97 e 123.

[00421] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve, em que a cadeia pesada compreende uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, pelo menos 99% idêntica à sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NOs: 47, 21, 73, 99 e 125; e em que a cadeia leve compreende uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, pelo menos 99% idêntica à sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NOs : 45, 19, 71, 97 e 123.

[00422] Em algumas modalidades, a porção de ligação ao anticorpo ou antígeno da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve, em que a cadeia pesada compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 49, 23, 75, 101 e 127; e em que a cadeia leve compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 45, 19, 71, 97 e 123.

[00423] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve, em que a cadeia pesada compreende uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, pelo menos 99% idêntica à sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NOs: 49, 23, 75, 101 e 127; e em que a cadeia leve compreende uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, pelo menos 99% idêntica à sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NOs : 45, 19, 71, 97 e 123.

[00424] Em algumas modalidades, a porção de ligação ao anticorpo ou antígeno da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve, em que a cadeia pesada compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 51, 25, 77, 103 e 129; e em que a cadeia leve compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 45, 19, 71, 97 e 123.

[00425] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39

humano e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve, em que a cadeia pesada compreende uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, pelo menos 99% idêntica à sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NOs: 51, 25, 77, 103 e 129; e em que a cadeia leve compreende uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, pelo menos 99% idêntica à sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NOs : 45, 19, 71, 97 e 123.

[00426] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências de aminoácidos selecionadas do grupo que consiste em:

(i) SEQ ID NO: 35 e 45, respectivamente;

(ii) SEQ ID NO: 9 e 19, respectivamente;

(iii) SEQ ID NO: 61 e 71, respectivamente;

(iv) SEQ ID NO: 87 e 97, respectivamente; e

(v) SEQ ID NO: 113 e 123, respectivamente.

[00427] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza um CD39 humano antagonista e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências de aminoácidos pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98% , pelo menos 99% idênticas às sequências de aminoácidos selecionadas do grupo que consiste em:

(i) SEQ ID NO: 35 e 45, respectivamente;

(ii) SEQ ID NO: 9 e 19, respectivamente;

(iii) SEQ ID NO: 61 e 71, respectivamente;

(iv) SEQ ID NO: 87 e 97, respectivamente; e

(v) SEQ ID NO: 113 e 123, respectivamente.

[00428] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências de aminoácidos selecionadas do grupo que consiste em:

(i) SEQ ID NO: 47 e 45, respectivamente;

(ii) SEQ ID NO: 21 e 19, respectivamente;

(iii) SEQ ID NO: 73 e 71, respectivamente;

(iv) SEQ ID NO: 99 e 97, respectivamente; e

(v) SEQ ID NO: 125 e 123, respectivamente.

[00429] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza um CD39 humano antagonista e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências de aminoácidos pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98% , pelo menos 99% idênticas às sequências de aminoácidos selecionadas do grupo que consiste em:

(i) SEQ ID NO: 47 e 45, respectivamente;

(ii) SEQ ID NO: 21 e 19, respectivamente;

(iii) SEQ ID NO: 73 e 71, respectivamente;

(iv) SEQ ID NO: 99 e 97, respectivamente; e

(v) SEQ ID NO: 125 e 123, respectivamente.

[00430] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências de aminoácidos selecionadas do grupo que consiste em:

(i) SEQ ID NO: 49 e 45, respectivamente;

(ii) SEQ ID NO: 23 e 19, respectivamente;

(iii) SEQ ID NO: 75 e 71, respectivamente;

(iv) SEQ ID NO: 101 e 97, respectivamente; e

(v) SEQ ID NO: 127 e 123, respectivamente.

[00431] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza um CD39 humano antagonista e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências de aminoácidos pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98% , pelo menos 99% idênticas às sequências de aminoácidos selecionadas do grupo que consiste em:

(i) SEQ ID NO: 49 e 45, respectivamente;

(ii) SEQ ID NO: 23 e 19, respectivamente;

(iii) SEQ ID NO: 75 e 71, respectivamente;

(iv) SEQ ID NO: 101 e 97, respectivamente; e

(v) SEQ ID NO: 127 e 123, respectivamente.

[00432] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências de aminoácidos selecionadas do grupo que consiste em:

(i) SEQ ID NO: 51 e 45, respectivamente;

(ii) SEQ ID NO: 25 e 19, respectivamente;

(iii) SEQ ID NO: 77 e 71, respectivamente;

(iv) SEQ ID NO: 103 e 97, respectivamente; e

(v) SEQ ID NO: 129 e 123, respectivamente.

[00433] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza um CD39 humano antagonista e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências de aminoácidos pelo menos 90%,

pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98% , pelo menos 99% idênticas às sequências de aminoácidos selecionadas do grupo que consiste em:

(i) SEQ ID NO: 51 e 45, respectivamente;

(ii) SEQ ID NO: 25 e 19, respectivamente;

(iii) SEQ ID NO: 77 e 71, respectivamente;

(iv) SEQ ID NO: 103 e 97, respectivamente; e

(v) SEQ ID NO: 129 e 123, respectivamente.

[00434] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma leve compreendendo sequências de aminoácidos estabelecidas em SEQ ID NO: 35 e 45, respectivamente.

[00435] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências de aminoácidos pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, pelo menos 99% idênticas às sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID NO: 35 e 45, respectivamente.

[00436] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma leve compreendendo sequências de aminoácidos estabelecidas em SEQ ID NO: 47 e 45, respectivamente;, respectivamente.

[00437] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências de aminoácidos pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, pelo menos 99%

idênticas às sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID NO: 47 e 45, respectivamente.

[00438] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma leve compreendendo sequências de aminoácidos estabelecidas em SEQ ID NO: 49 e 45, respectivamente;, respectivamente.

[00439] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências de aminoácidos pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, pelo menos 99% idênticas às sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID NO: 49 e 45, respectivamente.

[00440] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma leve compreendendo sequências de aminoácidos estabelecidas em SEQ ID NO: 51 e 45, respectivamente;, respectivamente.

[00441] Em algumas modalidades, o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo da divulgação se liga a e antagoniza CD39 humano e compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo sequências de aminoácidos pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, pelo menos 99% idênticas às sequências de aminoácidos estabelecidas na SEQ ID NO: 51 e 45, respectivamente.

[00442] Em algumas modalidades, o anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, compreende uma região constante de cadeia pesada de IgG4 mutante. Em algumas modalidades, a região constante de cadeia pesada de IgG4 mutante compreende uma

substituição S228P. Em algumas modalidades, a região constante de cadeia pesada de IgG4 mutante compreende uma substituição S228P e uma substituição L235E. Em algumas modalidades, a região constante de cadeia pesada de IgG4 mutante compreende uma substituição S228P e uma substituição L235A. Numeração de acordo com a numeração da UE.

Métodos para a produção de anticorpos anti-CD39 e fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos

[00443] A divulgação também apresenta métodos para a produção de qualquer um dos anticorpos anti-CD39 ou fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos aqui descritos. Em algumas modalidades, os métodos para a preparação de um anticorpo aqui descrito podem incluir imunizar um indivíduo (por exemplo, um mamífero não humano) com um imunógeno apropriado. Imunógenos adequados para gerar qualquer um dos anticorpos aqui descritos são estabelecidos aqui. Por exemplo, para gerar um anticorpo que se liga a CD39, um versado pode imunizar um indivíduo adequado (por exemplo, um mamífero não humano, como um rato, um camundongo, um gerbil, um hamster, um cachorro, um gato, um porco, uma cabra, um cavalo ou um primata não humano) com um polipeptídeo CD39 completo, como um polipeptídeo CD39 humano completo, compreendendo a sequência de aminoácidos representada na SEQ ID NO: 138.

[00444] Um indivíduo adequado (por exemplo, um mamífero não humano) pode ser imunizado com o antígeno apropriado juntamente com imunizações de reforço subsequentes várias vezes suficientes para provocar a produção de um anticorpo pelo mamífero. O imunógeno pode ser administrado a um indivíduo (por exemplo, um mamífero não humano) com um adjuvante. Adjuvantes úteis na produção de um anticorpo em um indivíduo incluem, mas não estão limitados a, adjuvantes proteicos; adjuvantes bacterianos, por

exemplo, bactérias inteiras (BCG, Corynebacterium parvum ou Salmonella minnesota) e componentes bacterianos, incluindo espinha dorsal da parede celular, dimerolato de trealose, monofosforil lipídeo A, resíduo extraível com metanol (MER) do bacilo tuberculoso, adjuvante completo ou incompleto de Freund; adjuvantes virais; adjuvantes químicos, por exemplo, hidróxido de alumínio e iodoacetato e hemisuccinato de colesteril. Outros adjuvantes que podem ser utilizados nos métodos para induzir uma resposta imune incluem, por exemplo, proteínas da toxina do cólera e parapoxvírus. Ver também Bieg et al. (1999) Autoimmunity 31(1):15-24. Ver também, por exemplo, Lodmell et al. (2000) Vaccine 18:1059-1066; Johnson et al. (1999) J Med Chem 42:4640-4649; Baldridge et al. (1999) Methods 19:103-107; and Gupta et al. (1995) Vaccine 13(14): 1263-1276.

[00445] Em algumas modalidades, os métodos incluem preparar uma linhagem celular de hibridoma que secreta um anticorpo monoclonal que se liga ao imunógeno. Por exemplo, um mamífero adequado, como um camundongo de laboratório, é imunizado com um polipeptídeo CD39 como descrito acima. As células produtoras de anticorpos (por exemplo, células B do baço) do mamífero imunizado podem ser isoladas dois a quatro dias após pelo menos uma imunização de reforço do imunógeno e depois cultivadas brevemente em cultura antes da fusão com células de uma linhagem celular de mieloma adequada. As células podem ser fundidas na presença de um promotor de fusão, como, por exemplo, vírus vaccinia ou polietileno glicol. As células híbridas obtidas na fusão são clonadas e os clones celulares que secretam os anticorpos desejados são selecionados. Por exemplo, as células do baço de camundongos Balb/c imunizados com um imunógeno adequado podem ser fundidas com células da linhagem celular de mieloma PAI ou com a linhagem celular de mieloma Sp2/0-Ag 14. Após a fusão, as células são expandidas em

meio de cultura adequado, que é suplementado com um meio de seleção, por exemplo, meio HAT, em intervalos regulares, a fim de impedir que as células normais de mieloma cresçam demais nas células de hibridoma desejadas. As células híbridas obtidas são então pesquisadas quanto à secreção dos anticorpos desejados, por exemplo, um anticorpo que se liga a CD39 humano e, em algumas modalidades, um versado pode identificar um anticorpo anti-CD39 a partir de uma biblioteca não imune, como descrito em, por exemplo, Patente U.S. 6.300.064 (de Knappik et al.; Morphosys AG) and Schoonbroodt et al. (2005) Nucleic Acids Res 33(9):e81.

[00446] Em algumas modalidades, os métodos aqui descritos podem envolver ou ser usados em conjunto com, por exemplo, tecnologias de exibição de fagos, exibição bacteriana, exibição de superfície de levedura, exibição viral eucariótica, exibição de células de mamíferos e técnicas de triagem de anticorpo sem células (por exemplo, exibição ribossômica) (ver, por exemplo, Etz et al. (2001) J Bacteriol 183:6924-6935; Cornelis (2000) Curr Opin Biotechnol 11:450-454; Klemm et al. (2000) Microbiology 146:3025-3032; Kieke et al. (1997) Protein Eng 10:1303-1310; Yeung et al. (2002) Biotechnol Prog 18:212-220; Boder et al. (2000) Methods Enzymology 328:430-444; Grabherr et al. (2001) Comb Chem High Throughput Screen 4:185-192; Michael et al. (1995) Gene Ther 2:660-668; Pereboev et al. (2001) J Virol 75:7107-7113; Schaffitzel et al. (1999) J Immunol Methods 231:119-135; and Hanes et al. (2000) Nat Biotechnol 18:1287-1292).

[00447] Os métodos para identificar anticorpos utilizando vários métodos de exibição de fagos são conhecidos na técnica. Nos métodos de exibição de fagos, os domínios funcionais de anticorpos são estabelecidos na superfície das partículas de fagos que transportam as sequências de polinucleotídeos que os codificam. Esse fago pode ser utilizado para exibir domínios de anticorpos que se ligam

ao antígeno, como Fab, Fv ou fragmentos de anticorpo Fv estabilizados na ligação dissulfeto, expressos a partir de um repertório ou de uma biblioteca combinatória de anticorpos (por exemplo, humano ou murino). Os fagos utilizados nestes métodos são tipicamente fagos filamentosos, tais como fd e M13. Os domínios de ligação ao antígeno são expressos como uma proteína fundida de forma recombinante a qualquer uma das proteínas de revestimento do fago pIII, pVIII ou pIX. Ver, por exemplo, Shi et al. (2010) JMB 397:385-396. Exemplos de métodos de exibição de fagos que podem ser utilizados para produzir imunoglobulinas, ou fragmentos dos mesmos, aqui descritos incluem os divulgados em Brinkman et al. (1995) J Immunol Methods 182:41-50; Ames et al. (1995) J Immunol Methods 184:177-186; Kettleborough et al. (1994) Eur J Immunol 24:952-958; Persic et al. (1997) Gene 187:9-18; Burton et al. (1994) Advances in Immunology 57:191-280; e publicações PCT WO 90/02809, WO 91/10737, WO 92/01047, WO 92/18619, WO 93/11236, WO 95/15982, e WO 95/20401. Métodos adequados também são descritos em, por exemplo, Patente U.S. 5.698.426; 5.223.409; 5.403.484; 5.580.717; 5.427.908; 5.750.753; 5.821.047; 5.571.698; 5.427.908; 5.516.637; 5.780.225; 5.658.727; 5.733.743 e 5.969.108.

[00448] Em algumas modalidades, as bibliotecas de anticorpos de exibição de fagos podem ser geradas usando mRNA coletado de células B dos mamíferos imunizados. Por exemplo, uma amostra de células esplênicas compreendendo células B pode ser isolada de camundongos imunizados com polipeptídeo CD39 como descrito acima. O mRNA pode ser isolado das células e convertido em cDNA usando técnicas padrão de biologia molecular. Ver, por exemplo, Sambrook, et al. (1989) "Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Edition," Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; Harlow and Lane (1988), supra; Benny K. C. Lo (2004), supra;

and Borrebaek (1995), supra. O cDNA que codifica para as regiões variáveis dos polipeptídeos de cadeia pesada e cadeia leve de imunoglobulinas é usado para construir a biblioteca de exibição de fagos. Os métodos para gerar essa biblioteca são descritos em, por exemplo, Merz et al. (1995) J Neurosci Methods 62(1-2):213-9; Di Niro et al. (2005) Biochem J 388(Pt 3):889–894; and Engberg et al. (1995) Methods Mol Biol 51:355-376.

[00449] Em algumas modalidades, uma combinação de seleção e triagem pode ser empregada para identificar um anticorpo de interesse de, por exemplo, uma população de anticorpos derivados de hibridoma ou uma biblioteca de anticorpos de exibição de fagos. Os métodos adequados são conhecidos na técnica e são descritos em, por exemplo, Hoogenboom (1997) Trends in Biotechnology 15:62-70; Brinkman et al. (1995), supra; Ames et al. (1995), supra; Kettleborough et al. (1994), supra; Persic et al. (1997), supra; and Burton et al. (1994), supra. Por exemplo, uma pluralidade de vetores fagomóides, cada um codificando uma proteína de fusão de uma proteína de revestimento de bacteriófago (por exemplo, pIII, pVIII ou pIX de fago M13) e uma região de combinação de antígeno diferente são produzidas usando técnicas padrão de biologia molecular e depois introduzidas em uma população de bactérias (por exemplo, E. coli). A expressão do bacteriófago em bactérias pode, em algumas modalidades, exigir o uso de um fago auxiliar. Em algumas modalidades, nenhum fago auxiliar é necessário (ver, por exemplo, Chasteen et al., (2006) Nucleic Acids Res 34(21):e145). Os fagos produzidos a partir das bactérias são recuperados e depois contatados com, por exemplo, um antígeno alvo ligado a um suporte sólido (imobilizado). O fago também pode ser contatado com o antígeno em solução, e o complexo é subsequentemente ligado a um suporte sólido.

[00450] Uma subpopulação de anticorpos rastreados usando os métodos acima pode ser caracterizada por sua especificidade e afinidade de ligação a um antígeno específico (por exemplo, CD39 humano) usando qualquer método baseado em imunológico ou bioquímico conhecido na técnica. Por exemplo, a ligação específica de um anticorpo a CD39, pode ser determinada, por exemplo, usando métodos imunológicos ou bioquímicos, tais como, mas não limitados a, um ensaio ELISA, ensaios SPR, ensaio de imunoprecipitação, cromatografia de afinidade e diálise de equilíbrio, como descrito acima. Os imunoensaios que podem ser usados para analisar a ligação imunoespecífica e a reatividade cruzada dos anticorpos incluem, mas não estão limitados a, sistemas de ensaios competitivos e não competitivos usando técnicas como Western blots, RIA, ELISA (ensaio imunossorvente ligado a enzima), imunoensaios em "sanduíche", ensaios de imunoprecipitação, ensaios de imunodifusão, ensaios de aglutinação, ensaios de fixação de complemento, ensaios imunorradiométricos, imunoensaios fluorescentes e imunoensaios de proteína A. Tais ensaios são rotineiros e bem conhecidos na técnica.

[00451] Entende-se que os métodos acima também podem ser utilizados para determinar se, por exemplo, um anticorpo anti-CD39 não se liga a proteínas CD39 e/ou CD39 humanas de comprimento total.

[00452] Nas modalidades em que as sequências de aminoácidos CDR selecionadas são sequências curtas (por exemplo, menos que 10 a 15 aminoácidos de comprimento), os ácidos nucleicos que codificam as CDRs podem ser quimicamente sintetizados como descrito em, por exemplo, Shiraishi et al. (2007) Nucleic Acids Symposium Series 51(1):129-130 e Patente U.S. 6.995.259. Para uma dada sequência de ácido nucleico que codifica um anticorpo aceitador, a região da sequência de ácido nucleico que codifica as CDRs pode ser

substituída pelos ácidos nucleicos sintetizados quimicamente usando técnicas padrão de biologia molecular. As extremidades 5' e 3' dos ácidos nucleicos sintetizados quimicamente podem ser sintetizadas para compreender os sítios das enzimas de restrição da extremidade pegajosa para uso na clonagem dos ácidos nucleicos no ácido nucleico que codifica a região variável do anticorpo doador.

[00453] Em algumas modalidades, os anticorpos anti-CD39 aqui descritos compreendem uma região constante de cadeia pesada alterada que possui função efetora reduzida (ou nenhuma) em relação à sua região constante inalterada correspondente. As funções efetoras que envolvem a região constante do anticorpo anti-CD39 podem ser moduladas alterando as propriedades da região constante ou Fc. As funções efetoras alteradas incluem, por exemplo, uma modulação em uma ou mais das seguintes atividades: citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC), citotoxicidade dependente de complemento (CDC), apoptose, ligação a um ou mais receptores Fc e respostas pró-inflamatórias. A modulação refere-se a um aumento, diminuição ou eliminação de uma atividade da função efetora exibida por um anticorpo indivíduo contendo uma região constante alterada em comparação com a atividade da forma inalterada da região constante. Em modalidades particulares, a modulação inclui situações nas quais uma atividade é abolida ou completamente ausente.

[00454] Em uma modalidade, os anticorpos anti-CD39 aqui descritos compreendem uma região constante de cadeia pesada de IgG4. Numa modalidade, a região constante de cadeia pesada de IgG4 é uma região constante de cadeia pesada de IgG4 do tipo selvagem. Em outra modalidade, a região constante de IgG4 compreende uma mutação, por exemplo, um ou ambos de S228P e L235E ou L235A, por exemplo, de acordo com a numeração da UE (Kabat, EA, et al., Supra). Sequências representativas para uso em

anticorpos da divulgação de regiões constantes de IgG4 de tipo selvagem e mutante são estabelecidas na Tabela 1. Em uma modalidade, os anticorpos anti-CD39 aqui descritos compreendem uma região constante IgG1. Numa modalidade, a região constante de cadeia pesada de IgG1 é uma região constante de cadeia pesada de IgG1 do tipo selvagem. Noutra modalidade, a região constante de cadeia pesada de IgG1 compreende uma mutação. Sequências representativas para uso em anticorpos da divulgação de regiões constantes de IgG4 de tipo selvagem e mutante são estabelecidas na Tabela 1.

[00455] Uma região constante alterada com afinidade de ligação ao FcR alterada e/ou atividade ADCC e/ou atividade CDC alterada é um polipeptídeo que possui uma atividade de ligação FcR intensificada ou diminuída e/ou atividade ADCC e/ou atividade CDC em comparação com a forma inalterada da região constante. Uma região constante alterada que exibe ligação aumentada a um FcR liga pelo menos um FcR com maior afinidade do que o polipeptídeo inalterado. Uma região constante alterada que exibe ligação reduzida a um FcR liga pelo menos um FcR com afinidade menor do que a forma inalterada da região constante. Tais variantes que exibem ligação reduzida a um FcR podem possuir pouca ou nenhuma ligação apreciável a um FcR, por exemplo, 0 a 50% (por exemplo, menos que 50, 49, 48, 47, 46, 45, 44, 43, 42, 41 , 40, 39, 38, 37, 36, 35, 34, 33, 32, 31, 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16 , 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 ou 1%) da ligação ao FcR em comparação com o nível de ligação de uma sequência nativa constante de imunoglobulina ou região Fc ao FcR. Da mesma forma, uma região constante alterada que exibe atividade ADCC e/ou CDC modulada pode exibir atividade ADCC e/ou CDC aumentada ou reduzida em comparação com a região constante inalterada. Por exemplo, em algumas modalidades, o

anticorpo anti-CD39 compreendendo uma região constante alterada pode exibir aproximadamente 0 a 50% (por exemplo, menos que 50, 49, 48, 47, 46, 45, 44, 43, 42, 41, 40 , 39, 38, 37, 36, 35, 34, 33, 32, 31, 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15 , 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 ou 1%) da atividade ADCC e/ou CDC da forma inalterada da região constante. Um anticorpo anti-CD39 descrito aqui compreendendo uma região constante alterada exibindo ADCC e/ou CDC reduzido pode exibir atividade ADCC e/ou CDC reduzida ou inexistente.

[00456] Em algumas modalidades, um anticorpo anti-CD39 aqui descrito exibe função efetora reduzida ou inexistente. Em algumas modalidades, um anticorpo anti-CD39 compreende uma região constante híbrida, ou uma porção da mesma, como uma região constante híbrida G2/G4 (ver, por exemplo, Burton et al. (1992) Adv Immun 51:1-18; Canfield et al. (1991) J Exp Med 173:1483-1491; and Mueller et al. (1997) Mol Immunol 34(6):441-452). Consulte acima.

[00457] Em algumas modalidades, um anticorpo anti-CD39 pode conter uma região constante alterada exibindo citotoxicidade dependente de complemento aumentada ou reduzida (CDC). A atividade modulada do CDC pode ser alcançada através da introdução de uma ou mais substituições, inserções ou deleções de aminoácidos em uma região Fc do anticorpo. Ver, por exemplo, patente U.S. 6.194.551. Alternativa ou adicionalmente, os resíduos de cisteína podem ser introduzidos na região Fc, permitindo assim a formação de ligações dissulfeto inter-cadeia nesta região. O anticorpo homodimérico assim gerado pode ter capacidade de internalização melhorada ou reduzida e/ou aumento ou diminuição da morte celular mediada por complemento. Veja, por exemplo, Caron et al. (1992) J Exp Med 176:1191-1195 and Shopes (1992) Immunol 148:2918-2922; publicação PCT WO 99/51642 e WO 94/29351; Duncan and Winter

(1988) Nature 322:738-40; e Patente U.S. 5.648.260 e 5.624.821.

Expressão e purificação de anticorpos recombinantes

[00458] Os anticorpos ou seus fragmentos de ligação ao antígeno aqui descritos podem ser produzidos usando uma variedade de técnicas conhecidas na técnica da biologia molecular e química de proteínas. Por exemplo, um ácido nucleico que codifica um ou ambos os polipeptídeos de cadeia pesada e leve de um anticorpo pode ser inserido em um vetor de expressão que contém sequências regulatórias da transcrição e da tradução, que incluem, por exemplo, sequências promotoras, sítios de ligação ribossômica, sequências de início e parada da transcrição, sequências de início e parada da tradução, sinais do terminador da transcrição, sinais de poliadenilação e sequências intensificadoras ou ativadoras. As sequências regulatórias incluem um promotor e sequências de início e parada da transcrição. Além disso, o vetor de expressão pode incluir mais de um sistema de replicação, de modo que possa ser mantido em dois organismos diferentes, por exemplo, em células de mamíferos ou insetos para expressão e em um hospedeiro procariótico para clonagem e amplificação.

[00459] Estão disponíveis vários sistemas vetoriais possíveis para a expressão de polipeptídeos de cadeia pesada e cadeia leve clonados a partir de ácidos nucleicos em células de mamíferos. Uma classe de vetores depende da integração das sequências genéticas desejadas no genoma da célula hospedeira. As células que possuem DNA integrado de maneira estável podem ser selecionadas pela introdução simultânea de genes de resistência a medicamentos, como E. coli gpt (Mulligan and Berg (1981) Proc Natl Acad Sci USA 78:2072) ou Tn5 neo (Southern and Berg (1982) Mol Appl Genet 1:327). O gene marcador selecionável pode ser ligado às sequências de genes de DNA a serem expressas ou introduzido na mesma célula por

cotransfecção (Wigler et al. (1979) Cell 16:77). Uma segunda classe de vetores utiliza elementos de DNA que conferem capacidades de replicação autônoma a um plasmídeo extracromossômico. Esses vetores podem ser derivados de vírus animais, como o papilomavírus bovino (Sarver et al. (1982) Proc Natl Acad Sci USA, 79:7147), citomegalovírus, polioma vírus (Deans et al. (1984) Proc Natl Acad Sci USA 81:1292), ou vírus SV40 (Lusky and Botchan (1981) Nature 293:79).

[00460] Os vetores de expressão podem ser introduzidos nas células de uma maneira adequada para a expressão subsequente do ácido nucleico. O método de introdução é amplamente ditado pelo tipo de célula alvo, discutido abaixo. Métodos exemplifictaivos incluem precipitação de CaPO4, fusão de lipossomas, lipossomas catiônicos, eletroporação, infecção viral, transfecção mediada por dextrano, transfecção mediada por polibeno, fusão de protoplasto e microinjeção direta.

[00461] As células hospedeiras apropriadas para a expressão de anticorpos ou fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos incluem células de levedura, bactérias, insetos, plantas e mamíferos. De particular interesse são bactérias como E. coli, fungos como Saccharomyces cerevisiae e Pichia pastoris, células de inseto como SF9, linhagens celulares de mamíferos (por exemplo, linhagens celulares humanas), bem como linhagens celulares primárias.

[00462] Em algumas modalidades, um anticorpo ou fragmento do mesmo pode ser expresso e purificado de animais transgênicos (por exemplo, mamíferos transgênicos). Por exemplo, um anticorpo pode ser produzido em mamíferos transgênicos não humanos (por exemplo, roedores) e isolado do leite, como descrito em, por exemplo, Houdebine (2002) Curr Opin Biotechnol 13 (6): 625-629; van Kuik-Romeijn et al. (2000) Transgenic Res 9(2):155-159; and Pollock et al.

(1999) J Immunol Methods 231(1-2):147-157.

[00463] Os anticorpos e fragmentos dos mesmos podem ser produzidos a partir das células cultivando uma célula hospedeira transformada com o vetor de expressão contendo ácido nucleico que codifica os anticorpos ou fragmentos, sob condições e por um período de tempo suficiente para permitir a expressão das proteínas. Tais condições para a expressão da proteína variarão com a escolha do vetor de expressão e da célula hospedeira e serão facilmente verificadas por um versado na técnica através de experimentação de rotina. Por exemplo, os anticorpos expressos em E. coli podem ser redobrados a partir de corpos de inclusão (ver, por exemplo, Hou et al. (1998) Cytokine 10:319-30). Os sistemas e métodos de expressão bacteriana para a sua utilização são bem conhecidos na técnica (ver Current Protocols in Molecular Biology, Wiley & Sons, and Molecular Cloning--A Laboratory Manual --3rd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York (2001)). A escolha de códons, vetores de expressão adequados e células hospedeiras adequadas variará dependendo de vários fatores e pode ser facilmente otimizada conforme necessário. Um anticorpo (ou fragmento do mesmo) aqui descrito pode ser expresso em células de mamíferos ou em outros sistemas de expressão, incluindo mas não limitado a leveduras, baculovírus e sistemas de expressão in vitro (ver, por exemplo, Kaszubska et al. (2000) Protein Expression and Purification 18:213-220).

[00464] Após a expressão, os anticorpos e fragmentos dos mesmos podem ser isolados. Um anticorpo ou fragmento do mesmo pode ser isolado ou purificado de várias maneiras conhecidas pelos versados na técnica, dependendo de quais outros componentes estão presentes na amostra. Os métodos padrão de purificação incluem técnicas eletroforéticas, moleculares, imunológicas e cromatográficas, incluindo

cromatografia de troca iônica, hidrofóbica, de afinidade e HPLC de fase reversa. Por exemplo, um anticorpo pode ser purificado usando uma coluna anti-anticorpo padrão (por exemplo, uma coluna de proteína A ou proteína G). Técnicas de ultrafiltração e diafiltração, em conjunto com a concentração de proteínas, também são úteis. Ver, por exemplo, Scopes (1994) "Protein Purification, 3rd edition," Springer-Verlag, New York City, New York. O grau de purificação necessário variará dependendo do uso desejado. Em alguns casos, não será necessária a purificação do anticorpo expresso ou fragmentos dos mesmos.

[00465] Os métodos para determinar o rendimento ou pureza de um anticorpo purificado ou fragmento do mesmo são conhecidos na técnica e incluem, por exemplo, ensaio de Bradford, espectroscopia UV, ensaio de proteína Biuret, ensaio de proteína Lowry, ensaio de proteína amido preto, cromatografia líquida de alta pressão (HPLC) , espectrometria de massa (MS) e métodos eletroforéticos em gel (por exemplo, usando uma mancha de proteína como Coomassie Blue ou mancha de prata coloidal).

Modificação dos anticorpos ou fragmentos de ligação ao antígeno

[00466] Os anticorpos ou fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos podem ser modificados após sua expressão e purificação. As modificações podem ser modificações covalentes ou não covalentes. Tais modificações podem ser introduzidas nos anticorpos ou fragmentos, por exemplo, reagindo resíduos de aminoácidos direcionados do polipeptídeo com um agente de derivação orgânico que é capaz de reagir com cadeias laterais selecionadas ou resíduos terminais. Locais adequados para modificação podem ser escolhidos usando qualquer um de uma variedade de critérios, incluindo, por exemplo, análise estrutural ou análise de sequência de aminoácidos dos anticorpos ou fragmentos.

[00467] Em algumas modalidades, os anticorpos ou fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos podem ser conjugados com uma fração heteróloga. A fração heteróloga pode ser, por exemplo, um polipeptídeo heterólogo, um agente terapêutico (por exemplo, uma toxina ou um fármacofármaco) ou uma etiqueta detectável, como, mas não limitado a, uma etiqueta radioativa, uma etiqueta enzimática, uma etiqueta fluorescente, uma etiqueta de metal pesado, uma etiqueta luminescente ou uma etiqueta de afinidade, como biotina ou estreptavidina. Os polipeptídeos heterólogos adequados incluem, por exemplo, um marcador antigênico (FLAG (DYKDDDDK (SEQ ID NO: 135)), poli-histidina (6-His; HHHHHH (SEQ ID NO: 136), hemaglutinina (HA; YPYDVPDYA (SEQ ID NO: 137)), glutationa-S-transferase (GST) ou proteína de ligação à maltose (MBP)) para uso na purificação de anticorpos ou fragmentos. Os polipeptídeos heterólogos também incluem polipeptídeos (por exemplo, enzimas) que são úteis como marcadores de diagnóstico ou detectáveis, por exemplo, luciferase, uma proteína fluorescente (por exemplo, proteína fluorescente verde (GFP)) ou cloranfenicol acetil transferase (CAT). Etiquetas radioativas adequadas incluem, por exemplo, 32P, 33P, 14C, 125I, 131I, 35S e 3H. Etiquetas fluorescentes adequadas incluem, sem limitação, fluorescência, isotiocianato de fluoresceína (FITC), proteína verde fluorescente (GFP), DyLight™ 488, ficoceritrina (PE), iodeto de propídio (PI), PerCP, PE-Alexa Fluor® 700, Cy5, aloficocianina e Cy7. As etiquetas luminescentes incluem, por exemplo, qualquer uma de uma variedade de quantatos de lantanídeos luminescentes (por exemplo, európio ou térbio). Por exemplo, os quelatos de európio adequados incluem o quelato de európio de ácido dietileno triamina pentaacético (DTPA) ou ácido tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetraacético (DOTA). Os marcadores enzimáticos incluem, por exemplo, fosfatase alcalina, CAT, luciferase e peroxidase de rábano

silvestre.

[00468] Duas proteínas (por exemplo, um anticorpo e uma fração heteróloga) podem ser reticuladas usando qualquer um de vários reticuladores químicos conhecidos. Exemplos de tais reticuladores são aqueles que ligam dois resíduos de aminoácidos através de uma ligação que inclui uma ligação dissulfeto "impedida". Nestas ligações, uma ligação dissulfeto dentro da unidade de reticulação é protegida (impedindo grupos de ambos os lados da ligação dissulfeto) da redução pela ação, por exemplo, de glutationa reduzida ou da enzima dissulfeto redutase. Um reagente adequado, 4-succinimidiloxicarbonil-□-metil-□(2-piridilditio)tolueno (SMPT), forma essa ligação entre duas proteínas utilizando uma lisina terminal em uma das proteínas e uma cisteína terminal na outra. Também podem ser utilizados reagentes heterobifuncionais que reticulam por uma porção de acoplamento diferente em cada proteína. Outros reticuladores úteis incluem, sem limitação, reagentes que ligam dois grupos amino (por exemplo, N-5-azido-2-nitrobenzoiloxissuccinimida), dois grupos sulfidril (por exemplo, 1,4-bis-maleimidobutano), um grupo amino e um grupo sulfidril (por exemplo, éster m-maleimidobenzoil-N-hidroxissuccinimida), um grupo amino e um grupo carboxil (por exemplo, 4-[p-azidosalicilamido]butilamina) e um grupo amino e um grupo guanidínio que está presente na cadeia lateral de arginina (por exemplo, p-azidofenil-glioxal mono-hidratado).

[00469] Em algumas modalidades, um marcador radioativo pode ser diretamente conjugado à espinha dorsal de aminoácidos do anticorpo. Alternativamente, o marcador radioativo pode ser incluído como parte de uma molécula maior (por exemplo, 125I em meta-[125I]iodofenil-N-hidroxissuccinimida ([125I]mIPNHS)) que se liga a grupos amino livres para formar derivados de meta-iodofenil (mIP) de proteínas relevantes (ver, por exemplo, Rogers et al. (1997) J Nucl

Med 38:1221-1229) ou quelato (por exemplo, para DOTA ou DTPA) que por sua vez está ligado à espinha dorsal da proteína. Os métodos para conjugar os marcadores radioativos ou moléculas/quelatos maiores que os contêm aos anticorpos ou fragmentos de ligação ao antígeno aqui descritos são conhecidos na técnica. Tais métodos envolvem incubar as proteínas com o marcador radioativo sob condições (por exemplo, pH, concentração de sal e/ou temperatura) que facilitam a ligação do marcador radioativo ou quelato à proteína (ver, por exemplo, Patente U.S. 6.001.329).

[00470] Os métodos para conjugar um marcador fluorescente (às vezes chamado de "fluoróforo") a uma proteína (por exemplo, um anticorpo) são conhecidos na técnica da química de proteínas. Por exemplo, os fluoróforos podem ser conjugados com grupos amino livres (por exemplo, de lisinas) ou grupos sulfidril (por exemplo, cisteínas) de proteínas utilizando frações éster succinimidil (NHS) ou éster tetrafluorofenil (TFP) ligadas aos fluoróforos. Em algumas modalidades, os fluoróforos podem ser conjugados com uma fração de reticulador heterobifuncional, como sulfo-SMCC. Os métodos de conjugação adequados envolvem incubar uma proteína de anticorpo, ou fragmento do mesmo, com o fluoróforo sob condições que facilitam a ligação do fluoróforo à proteína. Ver, por exemplo, Welch and Redvanly (2003) "Handbook of Radiopharmaceuticals: Radiochemistry and Applications," John Wiley and Sons (ISBN 0471495603).

[00471] Em algumas modalidades, os anticorpos ou fragmentos podem ser modificados, por exemplo, com uma fração que melhora a estabilização e/ou retenção dos anticorpos em circulação, por exemplo, no sangue, soro ou outros tecidos. Por exemplo, o anticorpo ou fragmento pode ser PEGuilado como descrito em, por exemplo, Lee et al. (1999) Bioconjug Chem 10(6): 973-8; Kinstler et al. (2002) Advanced Drug Deliveries Reviews 54:477-485; and Roberts et al.

(2002) Advanced Drug Delivery Reviews 54:459-476 ou HESylated (Fresenius Kabi, Germany; ver, por exemplo, Pavisić et al. (2010) Int J Pharm 387(1-2):110-119). A fração de estabilização pode melhorar a estabilidade ou retenção do anticorpo (ou fragmento) em pelo menos 1,5 (por exemplo, pelo menos 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40 ou 50 ou mais) vezes.

[00472] Em algumas modalidades, os anticorpos ou fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos aqui descritos podem ser glicosilados. Em algumas modalidades, um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo aqui descrito pode ser submetido a tratamento enzimático ou químico, ou produzido a partir de uma célula, de modo que o anticorpo ou fragmento possua glicosilação reduzida ou ausente. Os métodos para a produção de anticorpos com glicosilação reduzida são conhecidos na técnica e descritos em, por exemplo, patente U.S. 6.933.368; Wright et al. (1991) EMBO J 10(10):2717-2723; and Co et al. (1993) Mol Immunol 30:1361.

Composições e Formulações farmacêuticas

[00473] Em certas modalidades, a invenção fornece uma composição farmacêutica compreendendo um anticorpo anti-CD39 com um diluente, transportador, solubilizador, emolificante, emulsificante, conservante e/ou adjuvante farmaceuticamente aceitável.

[00474] Em certas modalidades, materiais de formulação aceitáveis são preferencialmente não tóxicos para os receptores nas dosagens e concentrações empregadas. Em certas modalidades, os materiais de formulação são para administração s.c. e/ou I.V. Em certas modalidades, a composição farmacêutica pode conter materiais de formulação para modificar, manter ou preservar, por exemplo, o pH, osmolaridade, viscosidade, claridade, cor, isotonicidade, odor, esterilidade, estabilidade, taxa de dissolução ou liberação, adsorção

ou penetração da composição. Em certas modalidades, os materiais de formulação adequados incluem, mas não estão limitados a, aminoácidos (como glicina, glutamina, asparagina, arginina ou lisina); antimicrobianos; antioxidantes (como ácido ascórbico, sulfito de sódio ou hidrogenossulfito de sódio); tampões (como borato, bicarbonato, Tris-HCl, citratos, fosfatos ou outros ácidos orgânicos); agentes de volume (como manitol ou glicina); agentes quelantes (tais como ácido etilenodiamina tetra-acético (EDTA)); agentes complexantes (como cafeína, polivinilpirrolidona, beta-ciclodextrina ou hidroxipropil-beta-ciclodextrina); enchimentos; monossacarídeos; dissacarídeos; e outros carboidratos (como glicose, manose ou dextrina); proteínas (como albumina sérica, gelatina ou imunoglobulinas); agentes corantes, aromatizantes e diluentes; agentes emulsificantes; polímeros hidrofílicos (como polivinilpirrolidona); polipeptídeos de baixo peso molecular; contraíons formadores de sal (como sódio); conservantes (como cloreto de benzalcônio, ácido benzoico, ácido salicílico, timerosal, álcool fenetílico, metilparabeno, propilparabeno, clorexidina, ácido sórbico ou peróxido de hidrogênio); solventes (como glicerina, propileno glicol ou polietileno glicol); álcoois de açúcar (como manitol ou sorbitol); agentes de suspensão; tensoativos ou agentes umectantes (tais como plurônicos, PEG, ésteres de sorbitano, polissorbatos, tais como polissorbato 20, polissorbato 80, triton, trometamina, lecitina, colesterol, tiloxapal); agentes que intensificam a estabilidade (como sacarose ou sorbitol); agentes intensificadores de tonicidade (tais como haletos de metais alcalinos, preferencialmente cloreto de sódio ou potássio, manitol sorbitol); veículos de distribuição; diluentes; excipientes e/ou adjuvantes farmacêuticos. (Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, A. R. Gennaro, ed., Mack Publishing Company (1995). Em certas modalidades, a formulação compreende PBS; NaOAC 20 mM, pH 5,2, NaCl 50 mM; e/ou NAOAC

10 mM, pH 5,2, sacarose a 9%. Em certas modalidades, a composição farmacêutica ideal será determinada por um versado na técnica dependendo, por exemplo, da via de administração prevista, formato de distribuição e dosagem desejada. Ver, por exemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, supra. Em certas modalidades, essas composições podem influenciar o estado físico, estabilidade, taxa de liberação in vivo e/ou taxa de depuração in vivo do anticorpo anti-CD39.

[00475] Em certas modalidades, o veículo ou transportador primário numa composição farmacêutica pode ser aquosa ou não aquosa na natureza. Por exemplo, em certas modalidades, um veículo ou transportador adequado pode ser água para injeção, solução salina fisiológica ou fluido cerebrospinal artificial, possivelmente suplementado com outros materiais comuns em composições para administração parenteral. Em certas modalidades, a solução salina compreende solução salina tamponada com fosfato isotônico. Em certas modalidades, a solução salina tamponada neutra ou solução salina misturada com albumina sérica são veículos adicionalmente exemplificativos. Em certas modalidades, as composições farmacêuticas compreendem tampão Tris de cerca de pH 7,0-8,5 ou tampão de acetato de cerca de pH 4,0-5,5, que pode incluir ainda sorbitol ou um substituto adequado. Em certas modalidades, uma composição compreendendo um anticorpo anti-CD39 pode ser preparada para armazenamento misturando a composição selecionada com o grau de pureza desejado com agentes de formulação opcionais (Remington's Pharmaceutical Sciences, supra) na forma de uma torta liofilizada ou uma solução aquosa. Além disso, em certas modalidades, uma composição compreendendo um anticorpo anti-CD39 pode ser formulada como um liofilizado usando excipientes apropriados, como sacarose.

[00476] Em certas modalidades, a composição farmacêutica pode ser selecionada para distribuição parenteral. Em certas modalidades, as composições podem ser selecionadas para inalação ou distribuição através do trato digestivo, como por via oral. A preparação de tais composições farmaceuticamente aceitáveis está dentro da capacidade de um versado na técnica.

[00477] Em certas modalidades, os componentes da formulação estão presentes em concentrações aceitáveis para o sítio da administração. Em certas modalidades, os tampões são usados para manter a composição em pH fisiológico ou em um pH ligeiramente mais baixo, tipicamente dentro de uma faixa de pH de cerca de 5 a cerca de 8.

[00478] Em certas modalidades, quando a administração parenteral é contemplada, uma composição terapêutica pode estar na forma de uma solução aquosa parenteralmente aceitável, livre de pirogênio, compreendendo um anticorpo anti-CD39, em um veículo farmaceuticamente aceitável. Em certas modalidades, um veículo para injeção parenteral é água destilada estéril, na qual um anticorpo anti-CD39 é formulado como uma solução isotônica estéril e adequadamente preservado. Em certas modalidades, a preparação pode envolver a formulação da molécula desejada com um agente, como microesferas injetáveis, partículas bioerodíveis, compostos poliméricos (como ácido polilático ou ácido poliglicólico), microesferas ou lipossomas, que podem fornecer liberação controlada ou sustentada do produto que pode então ser distribuído através de injeção de depósito. Em certas modalidades, ácido hialurônico também pode ser usado e pode ter o efeito de promoção de duração sustentada na circulação. Em certas modalidades, os dispositivos implantáveis de administração de fármacos podem ser usados para introduzir a molécula desejada.

[00479] Em certas modalidades, uma composição farmacêutica pode ser formulada para inalação. Em certas modalidades, um anticorpo anti-CD39 pode ser formulado como um pó seco para inalação. Em certas modalidades, uma solução de inalação compreendendo um anticorpo anti-CD39 pode ser formulada com um propulsor para distribuição de aerossol. Em certas modalidades, as soluções podem ser nebulizadas. A administração pulmonar é descrita adicionalmente no pedido PCT PCT/US94/001875, que descreve a distribuição pulmonar de proteínas quimicamente modificadas.

[00480] Em certas modalidades, é contemplado que as formulações possam ser administradas por via oral. Em certas modalidades, um anticorpo anti-CD39 que é administrado dessa maneira pode ser formulado com ou sem os veículos usados habitualmente na composição de formas de dosagem sólidas, como comprimidos e cápsulas. Em certas modalidades, uma cápsula pode ser projetada para liberar a porção ativa da formulação no ponto do trato gastrointestinal quando a biodisponibilidade é maximizada e a degradação pré-sistêmica é minimizada. Em certas modalidades, pelo menos um agente adicional pode ser incluído para facilitar a absorção de um anticorpo anti-CD39. Em certas modalidades, diluentes, aromas, ceras de baixo ponto de fusão, óleos vegetais, lubrificantes, agentes de suspensão, agentes de desintegração de comprimidos e aglutinantes também podem ser empregados.

[00481] Em certas modalidades, uma composição farmacêutica pode envolver uma quantidade eficaz de um anticorpo anti-CD39 em uma mistura com excipientes não tóxicos que são adequados para a fabricação de comprimidos. Em certas modalidades, dissolvendo os comprimidos em água estéril, ou outro veículo apropriado, as soluções podem ser preparadas na forma de dose unitária. Em certas modalidades, excipientes adequados incluem, mas não estão limitados

a, diluentes inertes, como carbonato de cálcio, carbonato ou bicarbonato de sódio, lactose ou fosfato de cálcio; ou agentes de ligação, tais como amido, gelatina ou acácia; ou agentes lubrificantes, tais como estearato de magnésio, ácido esteárico ou talco.

[00482] Composições farmacêuticas adicionais serão evidentes para os versados na técnica, incluindo formulações envolvendo um anticorpo anti-CD39 em formulações de distribuição sustentada ou controlada. Em certas modalidades, técnicas de formulação de uma variedade de outros meios de distribuição sustentada ou prolongada, como transportadores de lipossoma, micropartículas bioerodíveis ou microesferas porosas e injeções de depósito, também são conhecidas pelos versados na técnica. Ver, por exemplo, Pedido PCT PCT/US93/00829, que descreve a liberação controlada de micropartículas poliméricas porosas para distribuição de composições farmacêuticas. Em certas modalidades, preparações de liberação prolongada podem incluir matrizes poliméricas semipermeáveis sob a forma de artigos conformados, por exemplo, filmes, ou microcápsulas. As matrizes de liberação sustentada podem incluir poliésteres, hidrogéis, polilactídeos (Pat. U.S. 3.773.919 e EP 058.481), copolímeros de ácido L-glutâmico e gama-etil-L-glutamato (Sidman et al., Biopolymers, 22:547-556 (1983)), poli (2-hidroxietil-metacrilato) (Langer et al., J. Biomed. Mater. Res., 15: 167-277 (1981) and Langer, Chem. Tech., 12: 98-105 (1982)), acetato de vinil etileno (Langer et al., Supra) ou ácido poli-D(-)- 3-hidroxibutírico (EP 133.988). Em certas modalidades, as composições de liberação sustentada também podem incluir lipossomos, que podem ser preparados por qualquer um dos vários métodos conhecidos na técnica. Ver, por exemplo, Eppstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82:3688-3692 (1985); EP 036.676; EP 088.046 e EP 143.949.

[00483] A composição farmacêutica a ser utilizada para

administração in vivo é tipicamente estéril. Em certas modalidades, isso pode ser obtido por filtração através de membranas de filtração estéreis. Em certas modalidades, onde a composição é liofilizada, a esterilização usando este método pode ser realizada antes ou após a liofilização e reconstituição. Em certas modalidades, a composição para administração parenteral pode ser armazenada na forma liofilizada ou em uma solução. Em certas modalidades, composições parenterais geralmente são colocadas num recipiente tendo uma porta de acesso estéril, por exemplo, um frasco ou bolsa de solução intravenosa que tem um batente perfurável por uma agulha de injeção hipodérmica.

[00484] Em certas modalidades, uma vez que a composição farmacêutica foi formulada, a mesma pode ser armazenada em frascos estéreis como uma solução, suspensão, gel, emulsão, sólido, ou como um pó desidratado ou liofilizado. Em certas modalidades, tais formulações podem ser armazenadas ou numa forma pronta para uso ou numa forma (por exemplo, liofilizada) que é reconstituída antes da administração.

[00485] Em certas modalidades, são fornecidos kits para a produção de uma unidade de administração de dose única. Em certas modalidades, o kit pode conter um primeiro recipiente com uma proteína seca e um segundo recipiente com uma formulação aquosa. Em certas modalidades, são incluídos kits contendo seringas pré-preenchidas de uma e múltiplas câmaras (por exemplo, seringas líquidas e lio-seringas).

[00486] Em certas modalidades, a quantidade eficaz de uma composição farmacêutica compreendendo um anticorpo anti-CD39 a ser empregado terapeuticamente dependerá, por exemplo, do contexto e objetivos terapêuticos. Um versado na técnica compreenderá que os níveis de dosagem apropriados para o tratamento, de acordo com

certas modalidades, variarão, portanto, dependendo, em parte, da molécula distribuída, a indicação para a qual um anticorpo anti-CD39 está sendo usado, a via de administração e o tamanho (peso corporal, superfície corporal ou tamanho do órgão) e/ou condição (idade e estado geral de saúde) do paciente. Em certas modalidades, o clínico pode titular a dosagem e modificar a via de administração para obter o efeito terapêutico ideal.

[00487] Em certas modalidades, a frequência da dosagem levará em consideração os parâmetros farmacocinéticos de um anticorpo anti-CD39 na formulação utilizada. Em certas modalidades, um clínico administrará a composição até que seja alcançada uma dosagem que atinja o efeito desejado. Em certas modalidades, a composição pode, portanto, ser administrada como uma dose única ou como duas ou mais doses (que podem ou não conter a mesma quantidade da molécula desejada) ao longo do tempo, ou como uma infusão contínua via dispositivo ou cateter de implantação. Um refinamento adicional da dosagem apropriada é feito rotineiramente por aqueles versados na técnica e está no âmbito das tarefas rotineiramente executadas por eles. Em certas modalidades, as dosagens apropriadas podem ser determinadas através do uso de dados de resposta à dose apropriados.

[00488] Em certas modalidades, a via de administração da composição farmacêutica está de acordo com métodos conhecidos, por exemplo, por via oral, por injeção por via intravenosa, intraperitoneal, intracerebral (intra-parenquimatosa), intracerebroventricular, intramuscular, subcutânea, intra-ocular, intra-arterial, intraportal, rotas intralesionais; por sistemas de liberação sustentada ou por dispositivos de implantação. Em certas modalidades, as composições podem ser administradas por injeção em bolus ou continuamente por infusão ou por dispositivo de

implantação. Em certas modalidades, elementos individuais da terapia de combinação podem ser administrados por diferentes vias.

[00489] Em certas modalidades, a composição pode ser administrada localmente via implantação de uma membrana, esponja ou outro material apropriado no qual a molécula desejada tenha sido absorvida ou encapsulada. Em certas modalidades, onde um dispositivo de implantação é usado, o dispositivo pode ser implantado em qualquer tecido ou órgão adequado, e a distribuição da molécula desejada pode ser via difusão, bolus de liberação programada ou administração contínua. Em certas modalidades, pode ser desejável usar uma composição farmacêutica compreendendo um anticorpo anti-CD39 de maneira ex vivo. Em tais casos, células, tecidos e/ou órgãos que foram removidos do paciente são expostos a uma composição farmacêutica compreendendo um anticorpo anti-CD39, após o qual as células, tecidos e/ou órgãos são subsequentemente implantados de volta ao paciente.

[00490] Em certas modalidades, um anticorpo anti-CD39 pode ser distribuído implantando certas células que foram geneticamente modificadas, usando métodos como os aqui descritos, para expressar e secretar os polipeptídeos. Em certas modalidades, essas células podem ser células animais ou humanas e podem ser autólogas, heterólogas ou xenogênicas. Em certas modalidades, as células podem ser imortalizadas. Em certas modalidades, a fim de diminuir a chance de uma resposta imunológica, as células podem ser encapsuladas para evitar a infiltração dos tecidos circundantes. Em certas modalidades, os materiais de encapsulamento são tipicamente invólucros ou membranas poliméricas semi-permeáveis biocompatíveis que permitem a liberação do(s) produto(s) de proteínas, mas impedem a destruição das células pelo sistema imunológico do paciente ou por outros fatores prejudiciais dos tecidos

circundantes.

Aplicações

[00491] As composições aqui descritas podem ser usadas em várias aplicações terapêuticas e de diagnóstico. Por exemplo, moléculas de ligação a antígeno marcadas de forma detectável podem ser usadas em ensaios para detectar a presença ou quantidade dos antígenos alvo em uma amostra (por exemplo, uma amostra biológica). As composições podem ser utilizadas em ensaios in vitro para estudar a inibição da função do antígeno alvo. Em algumas modalidades, por exemplo, nas quais as composições se ligam e inibem uma proteína do complemento, as composições podem ser usadas como controles positivos em ensaios projetados para identificar novos compostos adicionais que inibem a atividade do complemento ou são úteis para o tratamento de um distúrbio associado ao complemento. Por exemplo, uma composição inibidora de CD39 pode ser usada como controle positivo em um ensaio para identificar compostos adicionais (por exemplo, pequenas moléculas, aptâmeros ou anticorpos) que reduzem ou revogam a produção de CD39. As composições também podem ser usadas em métodos terapêuticos, conforme elaborado abaixo.

[00492] Em algumas modalidades, a divulgação fornece um método para detectar CD39 em uma amostra biológica ou em um indivíduo, compreendendo (i) contatar a amostra ou o indivíduo (e, opcionalmente, uma amostra ou indivíduo de referência) com qualquer anticorpo na Tabela 1 sob condições que permitem que ocorra a interação da molécula de anticorpo e CD39 e (ii) detectar a formação de um complexo entre a molécula de anticorpo e a amostra ou o indivíduo (e, opcionalmente, a amostra ou indivíduo de referência).

Kits

[00493] Em algumas modalidades, a divulgação fornece um kit

compreendendo um anticorpo anti-CD39, conforme divulgado neste documento, e instruções de uso. Em algumas modalidades, a divulgação fornece um kit que compreende um anticorpo isolado que se liga a CD39 humano, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, como aqueles descritos aqui ou a composição farmacêutica que compreende o anticorpo, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, e instruções para uso na estimulação de uma resposta imune em um indivíduo ou tratamento de câncer em um indivíduo, opcionalmente com instruções para uso em combinação com um ou mais agentes ou procedimentos terapêuticos adicionais. Em algumas modalidades, um ou mais agentes ou procedimentos terapêuticos adicionais são selecionados do grupo que consiste em: quimioterapia, terapia anticâncer direcionada, fármaco oncolítico, agente citotóxico, terapia imunológica, citocina, procedimento cirúrgico, procedimento de radiação, ativador de uma molécula coestimulatória, inibidor de molécula inibitória, vacina ou imunoterapia celular ou uma combinação dos mesmos.

[00494] Em algumas modalidades, o kit fornece instruções para uso em combinação com um antagonista de PD-1, um antagonista de adenosina A2AR, um inibidor de CD73, um inibidor de CTLA-4, um inibidor de TIM-3, um inibidor de LAG-3, terapia celular de receptor de antígeno quimérico (CAR), uma antraciclina ou uma combinação dos mesmos.

[00495] Em algumas modalidades, o kit fornece instruções para uso em combinação com uma combinação de um inibidor de CD73 e um antagonista de A2AR. Em algumas modalidades, o kit fornece instruções para uso em combinação com uma combinação de um antagonista de PD-1 e um antagonista de adenosina A2AR.

[00496] Em algumas modalidades, o kit fornece instruções para uso em combinação com um antagonista de PD-1. Em algumas

modalidades, o antagonista de PD-1 é selecionado do grupo que consiste em: PDR001, nivolumabe, pembrolizumabe, pidilizumabe, MEDI0680, REGN2810, TSR-042, PF-06801591 e AMP-224. Em algumas modalidades, o antagonista de PD-1 é selecionado do grupo que consiste em: FAZ053, Atezolizumabe, Avelumabe, Durvalumabe e BMS-936559.

[00497] Em algumas modalidades, o kit fornece instruções para uso em combinação com um antagonista da adenosina A2AR. Em algumas modalidades, o antagonista da adenosina A2AR é selecionado do grupo que consiste em: NIR178, CPI-444, AZD4635, Vipadenant, GBV-2034 e AB928. Em algumas modalidades, o antagonista da adenosina A2AR é CPI-444.

[00498] Em algumas modalidades, o kit fornece instruções para uso em combinação com um inibidor de CD73. Em algumas modalidades, o inibidor de CD73 é selecionado do grupo que consiste em: AB421, MEDI9447 e BMS-986179.

[00499] Em algumas modalidades, o kit fornece instruções para uso em combinação com um inibidor de CTLA-4. Em algumas modalidades, o inibidor de CTLA-4 é Ipilimumabe ou **Tremelimumabe.**

[00500] Em algumas modalidades, o kit fornece instruções para uso em combinação com um inibidor de TIM-3. Em algumas modalidades, o inibidor de TIM-3 é MGB453 ou TSR-022.

[00501] Em algumas modalidades, o kit fornece instruções para uso em combinação com um inibidor de LAG-3. Em algumas modalidades, o inibidor de LAG-3 é selecionado do grupo que consiste em LAG525, BMS-986016 e TSR-033.

[00502] Em algumas modalidades, o kit fornece instruções para uso em combinação com uma terapia celular com terapia celular de receptor de antígeno quimérico (CAR). Em algumas modalidades, a terapia celular CAR é CTL019.

[00503] Em algumas modalidades, o kit fornece instruções para uso em combinação com uma antraciclina. Em algumas modalidades, a antraciclina é selecionada de doxorrubicina, daunorrubicina, epirrubicina, idarrubicina e valrubicina. Em algumas modalidades, a antraciclina é doxorrubicina.

[00504] Um kit pode incluir um anticorpo anti-CD39, conforme divulgado neste documento, e instruções de uso. Os kits podem compreender, em um recipiente adequado, um anticorpo anti-CD39, um ou mais controles e vários tampões, reagentes, enzimas e outros ingredientes padrão bem conhecidos na técnica. Em alguns aspectos, a divulgação fornece um kit que compreende um anticorpo anti-CD39 ou uma porção de ligação ao antígeno, conforme divulgado aqui, e instruções para uso no estímulo de uma resposta imune em um indivíduo ou no tratamento de câncer em um indivíduo, opcionalmente com instruções para uso em combinação com um ou mais agentes ou procedimentos terapêuticos adicionais, conforme divulgado neste documento.

[00505] O recipiente pode incluir pelo menos um frasco, poço, tubo de ensaio, frasco, garrafa, seringa ou outro meio de recipiente, no qual um anticorpo anti-CD39 pode ser colocado e, em alguns casos, adequadamente aliquotado. Onde um componente adicional é fornecido, o kit pode conter recipientes adicionais nos quais esse componente pode ser colocado. Os kits também podem incluir um meio para conter um anticorpo anti-CD39 e qualquer outro recipiente de reagente em confinamento próximo para venda comercial. Esses recipientes podem incluir recipientes de plástico injetado ou moldado por sopro nos quais os frascos desejados são retidos. Recipientes e/ou kits podem incluir etiquetas com instruções de uso e/ou avisos.

Métodos de uso

[00506] As composições da presente invenção têm inúmeras

utilidades in vitro e in vivo envolvendo a detecção e/ou quantificação de CD39 e/ou o antagonismo da função CD39.

[00507] Em algumas modalidades, a divulgação fornece métodos e usos para estimular uma resposta imune em um indivíduo, o método compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de um anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, que se liga a e antagoniza CD39, fornecido pelo divulgação ou uma composição farmacêutica compreendendo o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo e um transportador farmaceuticamente aceitável.

[00508] Em algumas modalidades, a divulgação fornece métodos e usos de tratamento de um câncer em um indivíduo, o método compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de um anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, que se liga a e antagoniza CD39, fornecido pela divulgação, ou uma composição farmacêutica compreendendo o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo e um transportador farmaceuticamente aceitável.

[00509] Em algumas modalidades, a divulgação fornece um método de tratamento de um câncer em um indivíduo, o método compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de um anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, que se liga a e antagoniza CD39, fornecido pela divulgação, ou uma composição farmacêutica compreendendo o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, e um transportador farmaceuticamente aceitável, em que o anticorpo, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, ou composição farmacêutica inibe ou reduz a atividade enzimática do CD39 em um microambiente tumoral, tratando desse modo o câncer.

[00510] Em algumas modalidades, a divulgação fornece um método

de tratamento de um câncer em um indivíduo, o método compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de um anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, que se liga a e antagoniza CD39, fornecido pela divulgação, ou uma composição farmacêutica compreendendo o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, e um transportador farmaceuticamente aceitável, em que o anticorpo, ou porção de ligação ao antígeno, ou a composição farmacêutica inibe ou reduz a atividade enzimática do CD39, em que a inibição ou redução da atividade enzimática de CD39 inibe ou reduz a conversão de adenosina trifosfato extracelular (eATP) ou adenosina difosfato extracelular (eADP) em adenosina monofosfato extracelular (AMP) em um microambiente tumoral, tratando desse modo o câncer.

[00511] Em algumas modalidades, a divulgação fornece um método de tratamento de um câncer em um indivíduo, o método compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de um anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno, que se liga a e antagoniza CD39, fornecido pela divulgação, ou uma composição farmacêutica compreendendo o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno, e um transportador farmaceuticamente aceitável, em que o anticorpo, ou porção de ligação ao antígeno, ou a composição farmacêutica inibe ou reduz a atividade enzimática do CD39, em que a inibição ou redução da atividade enzimática de CD39 aumenta ou intensifica um nível de adenosina trifosfato extracelular (eATP) em um microambiente tumoral, tratando desse modo o câncer.

[00512] Em algumas modalidades, a divulgação fornece um método de tratamento de um câncer em um indivíduo, o método compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de um anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, que se liga a e antagoniza CD39, fornecido pela divulgação, ou uma

composição farmacêutica compreendendo o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, e um transportador farmaceuticamente aceitável, em que o anticorpo, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, ou a composição farmacêutica inibe ou reduz a atividade enzimática do CD39, em que a inibição ou redução da atividade enzimática de CD39 diminui ou reduz um nível de adenosina extracelular em um microambiente tumoral, tratando desse modo o câncer.

[00513] Em algumas modalidades, a divulgação fornece um método de tratamento de um câncer em um indivíduo, o método compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de um anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno, que se liga a e antagoniza CD39, fornecido pela divulgação, ou uma composição farmacêutica compreendendo o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno, e um transportador farmaceuticamente aceitável, em que o anticorpo, ou porção de ligação ao antígeno, ou a composição farmacêutica inibe ou reduz a atividade enzimática do CD39, em que a inibição ou redução da atividade enzimática de CD39 aumenta ou intensifica um nível de adenosina trifosfato extracelular (eATP) e diminui ou reduz o nível de adenosina extracelular em um microambiente tumoral, tratando desse modo o câncer.

[00514] Em algumas modalidades, a divulgação fornece um método de tratamento de um câncer em um indivíduo, o método compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de um anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno, que se liga a e antagoniza CD39, fornecido pela divulgação, ou uma composição farmacêutica compreendendo o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno, e um transportador farmaceuticamente aceitável, em que o anticorpo, ou porção de ligação ao antígeno, ou a composição farmacêutica inibe ou reduz a atividade enzimática do CD39, em que a

inibição ou redução da atividade enzimática de CD39 mantém, aumenta ou intensifica um nível imunoestimulatório de adenosina trifosfato extracelular (eATP) em um microambiente tumoral, tratando desse modo o câncer.

[00515] Em algumas modalidades, a divulgação fornece um método de tratamento de um câncer em um indivíduo, o método compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de um anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, que se liga a e antagoniza CD39, fornecido pela divulgação, ou uma composição farmacêutica compreendendo o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, e um transportador farmaceuticamente aceitável, em que o anticorpo, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, ou a composição farmacêutica inibe ou reduz a atividade enzimática do CD39, em que a inibição ou redução da atividade enzimática do CD39 aumenta ou intensifica a proliferação de um linfócito no microambiente tumoral, tratando assim o câncer.

[00516] Em algumas modalidades, a divulgação fornece um método de tratamento de um câncer em um indivíduo, o método compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de um anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, que se liga a e antagoniza CD39, fornecido pela divulgação, ou uma composição farmacêutica compreendendo o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, e um transportador farmaceuticamente aceitável, em que o anticorpo, ou a porção de ligação ao antígeno do mesmo, ou a composição farmacêutica inibe ou reduz a atividade enzimática do CD39, em que a inibição ou redução da atividade enzimática do CD39 melhora a expressão de um ou mais marcadores de ativação de células dendríticas.

[00517] Em algumas modalidades, a divulgação fornece um método de tratamento de um câncer em um indivíduo, o método

compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de um anticorpo isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, que se liga a e antagoniza CD39, fornecido pela divulgação, ou uma composição farmacêutica compreendendo o anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, e um transportador farmaceuticamente aceitável, em que o anticorpo, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, ou a composição farmacêutica inibe ou reduz a atividade enzimática do CD39, em que a inibição ou redução da atividade enzimática de CD39 intensifica a secreção de uma ou mais citocinas de células dendríticas.

[00518] Em algumas modalidades, a divulgação fornece métodos de tratamento de câncer em um indivíduo, em que o câncer é selecionado do grupo que consiste em: câncer de pulmão (por exemplo, câncer de pulmão de células não pequenas), câncer de ovário, câncer de rim, câncer de testículo, câncer de pâncreas, câncer de mama (por exemplo, câncer de mama triplo-negativo), melanoma, câncer de cabeça e pescoço (por exemplo, câncer de cabeça e pescoço escamoso), câncer colorretal, câncer de bexiga, câncer endometrial, câncer de próstata, câncer de tireoide, carcinoma hepatocelular, câncer gástrico, câncer no cérebro, linfoma ou câncer renal (por exemplo, carcinoma de células renais).

[00519] As composições descritas acima são úteis, entre outros métodos, para o tratamento ou prevenção de uma variedade de cânceres em um indivíduo. As composições podem ser administradas a um indivíduo, por exemplo, um ser humano, usando uma variedade de métodos que dependem, em parte, da via de administração. A via pode ser, por exemplo, injeção intravenosa ou infusão (IV), injeção subcutânea (SC), injeção intraperitoneal (IP), injeção intramuscular (IM) ou injeção intratecal (IT). A injeção pode ser em bolus ou em infusão contínua.

[00520] A administração pode ser realizada por, por exemplo, infusão local, injeção ou por meio de um implante. O implante pode ser de um material poroso, não poroso ou gelatinoso, incluindo membranas, como membranas sialásticas ou fibras. O implante pode ser configurado para liberação sustentada ou periódica da composição para o indivíduo. Ver, por exemplo, a Publicação do Pedido de Patente U.S. 20080241223; Patentes U.S. 5.501.856; 4.863.457; e 3.710.795; EP488401; e EP 430539, cujas divulgações são incorporadas aqui por referência na sua totalidade. A composição pode ser distribuída ao indivíduo por meio de um dispositivo implantável baseado em, por exemplo, sistemas difusivos, erodíveis ou convectivos, por exemplo, bombas osmóticas, implantes biodegradáveis, sistemas de eletrodifusão, sistemas de eletro osmose, bombas de pressão de vapor, bombas eletrolíticas, bombas efervescentes, bombas piezoelétricas, sistemas baseados em erosão ou sistemas eletromecânicos.

[00521] Em algumas modalidades, um anticorpo anti-CD39 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo é terapeuticamente distribuído a um indivíduo por meio de administração local.

[00522] Uma dose adequada de um anticorpo ou fragmento do mesmo descrito aqui, cuja dose é capaz de tratar ou prevenir o câncer em um indivíduo, pode depender de uma variedade de fatores, incluindo, por exemplo, idade, sexo e peso de um indivíduo a ser tratado e o composto inibidor particular utilizado. Por exemplo, uma dose diferente de um anticorpo anti-CD39 completo pode ser necessária para tratar um indivíduo com câncer em comparação com a dose de um fragmento de anticorpo Fab' de ligação a CD39 necessário para tratar o mesmo indivíduo. Outros fatores que afetam a dose administrada ao indivíduo incluem, por exemplo, o tipo ou gravidade do câncer. Por exemplo, um indivíduo com melanoma metastático

pode exigir a administração de uma dosagem diferente de um anticorpo anti-CD39 do que um indivíduo com glioblastoma. Outros fatores podem incluir, por exemplo, outros distúrbios médicos que afetam o indivíduo de forma simultânea ou prévia, a saúde geral do indivíduo, a disposição genética do indivíduo, dieta, tempo de administração, taxa de excreção, combinação de fármaco e quaisquer outros terapêuticos adicionais que são administrados ao indivíduo. Também deve ser entendido que uma dosagem e regime de tratamento específicos para qualquer indivíduo em particular também dependerão do julgamento do médico assistente (por exemplo, médico ou enfermeiro). Dosagens adequadas são descritas aqui.

[00523] Uma composição farmacêutica pode incluir uma quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo anti-CD39 ou fragmento de ligação ao antígeno aqui descrito. Tais quantidades eficazes podem ser prontamente determinadas por um versado na técnica, com base, em parte, no efeito do anticorpo administrado ou no efeito combinatório do anticorpo e um ou mais agentes ativos adicionais, se mais de um agente for usado. Uma quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo ou fragmento descrito aqui também pode variar de acordo com fatores como estado da doença, idade, sexo e peso do indivíduo, e a capacidade do anticorpo (e um ou mais agentes ativos adicionais) de provocar uma resposta desejada no indivíduo, por exemplo, redução no crescimento do tumor. Por exemplo, uma quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo anti-CD39 pode inibir (diminuir a gravidade ou eliminar a ocorrência de) e/ou prevenir um distúrbio específico e/ou qualquer um dos sintomas do distúrbio específico conhecido na técnica ou aqui descrito. Uma quantidade terapeuticamente eficaz é também aquela em que quaisquer efeitos tóxicos ou prejudiciais da composição são compensados pelos efeitos terapeuticamente benéficos.

[00524] Doses humanas adequadas de qualquer um dos anticorpos ou fragmentos descritos aqui podem ser ainda avaliadas em, por exemplo, estudos de escalonamento da dose da Fase I. Ver, por exemplo, van Gurp et al. (2008) Am J Transplantation 8(8):1711-1718; Hanouska et al. (2007) Clin Cancer Res 13(2, parte 1):523-531; e Hetherington et al. (2006) Antimicrobial Agents and Chemotherapy 50(10): 3499-3500.

[00525] Em algumas modalidades, a composição contém qualquer um dos anticorpos ou fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos aqui descritos e um ou mais (por exemplo, dois, três, quatro, cinco, seis, sete, oito, nove, 10 ou 11 ou mais) agentes terapêuticos adicionais de modo que a composição como um todo seja terapeuticamente eficaz. Por exemplo, uma composição pode conter um anticorpo anti-CD39 aqui descrito e um agente alquilante, em que o anticorpo e o agente estão cada um em uma concentração que, quando combinados, são terapeuticamente eficazes para o tratamento ou prevenção de um câncer (por exemplo, melanoma) em um indivíduo.

[00526] A toxicidade e eficácia terapêutica de tais composições podem ser determinadas por procedimentos farmacêuticos conhecidos em culturas de células ou animais experimentais (por exemplo, modelos animais de qualquer um dos cânceres aqui descritos). Esses procedimentos podem ser utilizados, por exemplo, para determinar o LD50 (a dose letal para 50% da população) e o ED50 (a dose terapeuticamente eficaz em 50% da população). A razão de dose entre efeitos tóxicos e terapêuticos é o índice terapêutico e pode ser expressa como a razão LD50/ED50. É preferido um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que exibe um alto índice terapêutico. Enquanto as composições que apresentam efeitos colaterais tóxicos possam ser usadas, deve-se tomar cuidado para

projetar um sistema de distribuição que direcione tais compostos ao sítio do tecido afetado a fim de minimizar possíveis danos às células normais e, assim, reduzir os efeitos colaterais.

[00527] Os dados obtidos de ensaios da cultura de células e estudos em animais podem ser utilizados na formulação de uma faixa de dosagem para uso em humanos. A dosagem de tais anticorpos ou fragmentos de ligação ao antígeno está geralmente dentro de uma faixa de concentrações circulantes dos anticorpos ou fragmentos que incluem o ED50 com pouca ou nenhuma toxicidade. A dosagem pode variar dentro desta faixa dependendo da forma de dosagem empregada e a via de administração utilizada. Para um anticorpo anti-CD39 aqui descrito, a dose terapeuticamente eficaz pode ser estimada inicialmente a partir de ensaios de cultura de células. Uma dose pode ser formulada em modelos animais para atingir um intervalo de concentração no plasma circulante que inclua a IC50 (isto é, a concentração do anticorpo que atinge uma inibição meio-máxima) conforme determinado em cultura de células. Tal informação pode ser usada para determinar com maior precisão as doses úteis em seres humanos. Os níveis no plasma podem ser medidos, por exemplo, por cromatografia líquida de alto desempenho. Em algumas modalidades, por exemplo, onde a administração local (por exemplo, no olho ou em uma articulação) é desejada, a cultura de células ou a modelagem animal podem ser usadas para determinar uma dose necessária para alcançar uma concentração terapeuticamente eficaz no local.

[00528] Em algumas modalidades, os métodos podem ser realizados em conjunto com outras terapias para o câncer. Por exemplo, a composição pode ser administrada a um indivíduo ao mesmo tempo, antes ou depois da radiação, cirurgia, quimioterapia direcionada ou citotóxica, quimiorradioterapia, terapia hormonal, imunoterapia, terapia genética, terapia de transplante celular, medicina

de precisão, terapia deedição de genoma ou outra farmacoterapia.

[00529] Conforme descrito acima, as composições aqui descritas (por exemplo, composições anti-CD39) podem ser usadas para tratar uma variedade de cânceres, tais como, mas não se limitando a: sarcoma de Kaposi, leucemia, leucemia linfocítica aguda, leucemia mielocítica aguda, mieloblastos promielócitos, mielomonocítica, eritroleucemia monocítica, leucemia crônica, leucemia mielocítica crônica (granulocítica), leucemia linfocítica crônica, linfoma de células do manto, linfoma primário do sistema nervoso central, linfoma de Burkitt e linfoma de células B da zona marginal, Linfoma Policitemia vera, doença de Hodgkin, doença não Hodgkin, mieloma múltiplo, macroglobulinemia de Waldenstrom, doença de cadeia pesada, tumores sólidos, sarcomas e carcinomas, fibrossarcoma, mixossarcoma, lipossarcoma, crondrossarcoma, sarcoma osteogênico, osteoarcoma, cordoma, angiossarcoma, endoteliossarcoma, linfangiossarcoma, linfangioendoteliossarcoma, sinovioma, mesotelioma, tumor de Ewing, leiomiossarcoma, rabdomiossarcoma, sarcoma de cólon, carcinoma colorretal, câncer pancreático, câncer de mama, câncer de ovário, câncer de próstata, carcinoma de células escamosas, carcinoma de células basais, adenocarcinoma, carcinoma das glândulas sudoríparas, carcinoma das glândulas sebáceas, carcinoma papilar, adenocarcinomas papilares, cistadenocarcinoma, carcinoma medular, carcinoma broncogênico, carcinoma de células renais, hepatoma, carcinoma do ducto biliar, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embrionário, tumor de Wilm, câncer cervical, câncer uterino, tumor testicular, carcinoma pulmonar, carcinoma pulmonar de células pequenas, carcinoma pulmonar de células não pequenas, carcinoma de bexiga, carcinoma epitelial, glioma, astrocitoma, meduloblastoma, craniofaringioma, ependimoma, pinealoma, hemangioblastoma, neuroma acústico, oligodendroglioma,

menangioma, melanoma, neuroblastoma, retinoblastoma, carcinoma nasofaríngeo, carcinoma esofágico, carcinoma basocelular, câncer do trato biliar, câncer de bexiga, câncer ósseo, câncer de cérebro e do sistema nervoso central (CNS), câncer cervical, coriocarcinoma, cânceres colorretais, câncer de tecido conjuntivo, câncer do sistema digestivo, câncer endometrial, câncer de esôfago, câncer de olho, câncer de cabeça e pescoço, câncer gástrico, neoplasia intraepitelial, câncer de rim, câncer de laringe, câncer de fígado, câncer de pulmão (células pequenas, células grandes), melanoma, neuroblastoma; câncer da cavidade oral (por exemplo, lábio, língua, boca e faringe), câncer de ovário, câncer pancreático, retinoblastoma, rabdomiossarcoma, câncer retal; câncer do sistema respiratório, sarcoma, Sarcoma de Kaposi, câncer de pele, câncer de estômago, câncer testicular, câncer de tireoide, câncer uterino e câncer do sistema urinário.

[00530] As indicações de prioridade podem ser selecionadas com base em uma variedade de padrões de expressão de proteínas: 1) expressão negligenciável de CD39 em tecido normal com superregulação no tecido tumoral (câncer de pulmão, câncer de ovário, câncer de pâncreas, câncer de rim, câncer de testículo), 2) manutenção da expressão de CD39 em cânceres hematopoiéticos (linfomas de células B, leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide aguda) e 3) expressão CD39 positiva em cânceres ricos em mieloide ou Treg (câncer de mama, câncer gástrico, câncer de cabeça e pescoço, câncer de esôfago).

Terapia de Combinação

[00531] Em algumas modalidades, um anticorpo anti-CD39, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, fornecido pela divulgação, pode ser combinado com um ou mais terapêuticos ou tratamentos adicionais, por exemplo, outro terapêutico ou tratamento para um

câncer. Por exemplo, o anticorpo anti-CD39, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, pode ser administrado a um indivíduo (por exemplo, um paciente humano) em combinação com um ou mais terapêuticos adicionais, em que a combinação fornece um benefício terapêutico a um indivíduo que possui, ou corre o risco de desenvolver câncer.

[00532] Em algumas modalidades, um anticorpo anti-CD39, ou uma porção de ligação ao antígeno do mesmo, e os um ou mais terapêuticos adicionais são administrados ao mesmo tempo (por exemplo, simultaneamente). Em outras modalidades, o anticorpo anti-CD39, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, é administrado em primeiro lugar e os um ou mais terapêuticos adicionais são administrados em segundo lugar (por exemplo, sequencialmente). Em algumas modalidades, os um ou mais terapêuticos adicionais são administrados em primeiro lugar e o anticorpo anti-CD39 é administrado em segundo lugar.

[00533] Um anticorpo anti-CD39 ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo aqui descrito pode substituir ou aumentar uma terapia administrada anteriormente ou atualmente. Por exemplo, ao tratar com um anticorpo anti-CD39 ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, a administração de um ou mais terapêuticos adicionais pode cessar ou diminuir, por exemplo, ser administrada em níveis mais baixos. Em algumas modalidades, a administração da terapia anterior pode ser mantida. Em algumas modalidades, uma terapia anterior será mantida até que o nível do anticorpo anti-CD39 atinja um nível suficiente para fornecer um efeito terapêutico.

[00534] Em algumas modalidades, a divulgação fornece um método de tratamento de câncer em um indivíduo, o método compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de um anticorpo anti-CD39 isolado, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, que se

liga a e antagoniza CD39, fornecida pela divulgação, em combinação com um ou mais procedimentos ou agentes terapêutico adicionais, em que o segundo procedimento ou agente terapêutico é selecionado do grupo que consiste em: uma quimioterapia, uma terapia anticâncer direcionada, um medicamento oncolítico, um agente citotóxico, uma terapia imunobaseada, uma citocina, procedimento cirúrgico, um procedimento de radiação, um ativador de uma molécula coestimulatória, um inibidor de uma molécula inibitória, uma vacina ou uma imunoterapia celular, ou uma combinação dos mesmos.

[00535] Em algumas modalidades, os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são um antagonista de PD-1, um antagonista de adenosina A2AR, um inibidor de CD73, um inibidor de CTLA-4, um inibidor de TIM-3, um inibidor de LAG-3, terapia celular de receptor de antígeno quimérico (CAR), uma antraciclina, ou uma combinação dos mesmos.

[00536] Em algumas modalidades, os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são uma combinação de um inibidor de CD73 e um antagonista de A2AR. Em algumas modalidades, os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são uma combinação de um antagonista de PD-1 e um antagonista de adenosina A2AR. Em algumas modalidades, os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são um antagonista de PD-1.

[00537] Em algumas modalidades, o antagonista de PD-1 é selecionado do grupo que consiste em: PDR001, nivolumabe, pembrolizumabe, pidilizumabe, MEDI0680, REGN2810, TSR-042, PF-06801591 e AMP-224. Em algumas modalidades, o antagonista de PD-1 é selecionado do grupo que consiste em: FAZ053, Atezolizumabe, Avelumabe, Durvalumabe e BMS-936559.

[00538] Em algumas modalidades, os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são um antagonista da adenosina A2AR. Em

algumas modalidades, o antagonista da adenosina A2AR é selecionado do grupo que consiste em: NIR178, CPI-444, AZD4635, Vipadenant, GBV-2034 e AB928. Em algumas modalidades, o antagonista da adenosina A2AR é CPI-444.

[00539] Em algumas modalidades, os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são um inibidor de CD73. Em algumas modalidades, o inibidor de CD73 é selecionado do grupo que consiste em: AB421, MEDI9447 e BMS-986179.

[00540] Em algumas modalidades, os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são um inibidor de CTLA-4. Em algumas modalidades, o inibidor de CTLA-4 é Ipilimumabe ou Tremelimumabe.

[00541] Em algumas modalidades, os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são um inibidor de TIM-3. Em algumas modalidades, o inibidor de TIM-3 é MGB453 ou TSR-022.

[00542] Em algumas modalidades, os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são um inibidor de LAG-3. Em algumas modalidades, o inibidor de LAG-3 é selecionado do grupo que consiste em LAG525, BMS-986016 e TSR-033.

[00543] Em algumas modalidades, os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são uma terapia celular do receptor de antígeno quimérico (CAR). Em algumas modalidades, a terapia celular CAR é CTL019.

[00544] Em algumas modalidades, os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são uma antraciclina. Em algumas modalidades, a antraciclina é selecionada de doxorrubicina, daunorrubicina, epirrubicina, idarrubicina e valrubicina. Em algumas modalidades, a antraciclina é doxorrubicina.

Combinação com agentes quimioterapêuticos

[00545] Em algumas modalidades, um agente quimioterapêutico é usado em combinação com um anticorpo anti-CD39 aqui descrito.

Agentes quimioterapêuticos exemplificativos incluem, mas não estão limitados a, antraciclinas (por exemplo, doxorrubicina, idarrubicina, daunorrubicina, citarabina, epirubicina, valrubicina e mitoxantrona) (ver, por exemplo, Minotti et al., (2004) Pharmacol Rev 56(2):185-229), inibidores da topoisomerase (por exemplo, topotecano; Hycamtin, camptotecina, etoposídeo) (ver, por exemplo, Pommier et al., (2010) Chem Biol 17 (5):421-433; que é incorporado aqui por referência na sua totalidade), bleomicina (Kimura et al., (1972) Câncer 29(1):58-60), gemcitabina (Plunkett et al., (1995) Semin Oncol 22 (4 Suppl 11):3-10), platinas (por exemplo, carboplatina, cisplatina, oxaliplatina, satraplatina, picoplatina) (Kelland (2007) Nat Rev Cancer 7 (8):573-584), taxanos (por exemplo, docetaxel, paclitaxel, abraxane) (Abal et al., (2003) Curr Cancer Drug Targets 3 (3):193-203), agentes alquilantes de DNA (por exemplo, ciclofosfamida, bendamustina) (Leoni et al., (2008) Clin Cancer Res 14 (1):309-317), CHOP (combinação de fármacos de ciclofosfamida, doxorrubicina) cloridrato, vincristina e prednisona) (Dunleavy (2014) Hematology Am Soc Hematol Educ Program 2014 (1):107-112) e fluorouracil e derivados dos mesmos (Alvarez et al., (2012) Expert Opin Ther Pat 22(2):107-123, que é incorporada aqui por referência na sua totalidade).

[00546] Estudos recentes demonstraram que os resultados terapêuticos com agentes quimioterapêuticos específicos (por exemplo, antraciclinas) se correlacionam fortemente com sua capacidade de induzir um processo de morte celular imunogênica (ICD) em células cancerígenas. Esse processo gera uma série de sinais que estimulam o sistema imunológico a reconhecer e limpar as células tumorais. Estudos extensos revelaram que a ICD induzida por quimioterapia ocorre através da exposição/liberação do ligando 10 da calreticulina (CALR), ATP, quimiocina (motivo C–X–C) 10 (CXCL10) e caixa 1 do grupo de alta mobilidade (HMGB1) (Gebremeskel and

Johnston (2015) 6(39):41600-41619). Em algumas modalidades, o agente quimioterapêutico induz a morte celular imunogênica (ICD). Em algumas modalidades, o agente que induz a ICD é uma antraciclina. Em algumas modalidades, a antraciclina é selecionada de doxorrubicina, daunorrubicina, epirrubicina, idarrubicina e valrubicina. Em algumas modalidades, a antraciclina é doxorrubicina. Em algumas modalidades, o agente que induz ICD é um derivado de platina. Em algumas modalidades, o derivado de platina é selecionado de oxaliplatina, carboplatina e cisplatina. Em algumas modalidades, o derivado de platina é oxaliplatina.

[00547] Outros agentes quimioterápicos adequados para combinação e/ou coadministração com composições da presente invenção incluem, por exemplo: taxol, citocalasina B, gramicidina D, brometo de etídio, emetina, mitomicina, etoposídeo, tenoposídeo, vincristina, vinblastina, colchicina, doxorrubicina, daunorrubicina, di-hidroxiantrancindiona, mitoxantrona, mitramicina, actinomicina D, 1-desidrotestosterona, glucocorticoides, procaína, tetracaína, lidocaína, propranolol e puromicina e análogos ou homólogos dos mesmos. Outros agentes incluem, por exemplo, antimetabólitos (por exemplo, metotrexato, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, citarabina, 5-fluorouracil decarbazina), agentes alquilantes (por exemplo, mecloretamina, tioTEPA, clorambucil, melfalano, carmustina (BSNU), lomustina (CCNU), lomustina ciclofosfamida, bussulfano, dibromomannitol, estreptozotocina, mitomicina C, cis-diclordiamina platina (II) (DDP), procarbazina, altretamina, cisplatina, carboplatina, oxaliplatina, nedaplatina, satraplatina ou tetranitrato de triplatina), antraciclina (por exemplo, daunorrubicina (anteriormente daunomicina) e doxorrubicina), antibióticos (por exemplo, dactinomicina (anteriormente actinomicina), bleomicina, mitramicina e antramicina (AMC)) e agentes antimitóticos (por exemplo, vinolastina) e temozolomida.

Combinação com antagonistas PD-1/PD-L1

[00548] Em algumas modalidades, os anticorpos anti-CD39, ou porções de ligação ao antígeno dos mesmos, fornecidos pela divulgação são combinados (por exemplo, administrados em combinação) com um ou mais antagonistas de PD-1 que se ligam a PD-1 ou PD-L1 humano e inibem a atividade biológica de PD-1/PD-L1 e/ou via(s) a jusante e/ou celular processado mediado por sinalização humana de PD-1/PD-L1 ou outras funções humanas mediadas por PD-1/PD-L1.

[00549] Por conseguinte, são aqui fornecidos antagonistas de PD-1 que bloqueiam, antagonizam, suprimem, inibem ou reduzem direta ou alostericamente a atividade biológica de PD-1/PD-L1, incluindo vias a jusante e/ou processos celulares mediados pela sinalização de PD-1/PD-L1 , como ligação ao receptor e/ou obtenção de uma resposta celular à PD-1/PD-L1. Também são aqui fornecidos antagonistas de PD-1 que reduzem a quantia ou quantidade de PD-1 ou PD-L1 humana produzida por uma célula ou indivíduo.

[00550] Em algumas modalidades, a divulgação fornece um antagonista de PD-1 que liga PD-1 humana e impede, inibe ou reduz a ligação de PD-L1 à PD-1. Em alguns aspectos, o antagonista de PD-1 se liga ao mRNA que codifica PD-1 ou PD-L1 e impede a tradução. Em algumas modalidades, o antagonista de PD-1 se liga ao mRNA que codifica PD-1 ou PD-L1 e causa degradação e/ou rotatividade.

[00551] Em algumas modalidades, o antagonista de PD-1 inibe a sinalização ou função de PD-1. Em algumas modalidades, o antagonista de PD-1 bloqueia a ligação de PD-1 a PD-L1, PD-L2 ou a PD-L1 e PD-L2. Em algumas modalidades, o antagonista de PD-1 bloqueia a ligação de PD-1 a PD-L1. Em algumas modalidades, o antagonista de PD-1 bloqueia a ligação de PD-1 à PD-L2. Em algumas modalidades, o antagonista de PD-1 bloqueia a ligação de PD-1 a PD-

L1 e PD-L2. Em algumas modalidades, o antagonista de PD-1 se liga à PD-1. Em algumas modalidades, o antagonista de PD-1 se liga a PD-L1. Em algumas modalidades, o antagonista de PD-1 se liga à PD-L2.

[00552] Em algumas modalidades, o antagonista de PD-1 inibe a ligação de PD-1 ao seu ligando cognato. Em algumas modalidades, o antagonista de PD-1 inibe a ligação de PD-1 a PD-L1, PD-1 à PD-L2 ou PD-1 a PD-L1 e PD-L2. Em algumas modalidades, o antagonista de PD-1 não inibe a ligação de PD-1 ao seu ligando cognato.

[00553] Em algumas modalidades, o antagonista de PD-1 é um anticorpo isolado (mAb), ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que se liga à PD-1 ou PD-L1. Em algumas modalidades, o antagonista de PD-1 é um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que se liga à PD-1 humana. Em algumas modalidades, o antagonista de PD-1 é um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que se liga a PD-L1 humana. Em algumas modalidades, o antagonista de PD-1 é um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga a PD-L1 humano e inibe a ligação de PD-L1 à PD-1. Em algumas modalidades, o antagonista de PD-1 é um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga à PD-1 humana e inibe a ligação de PD-L1 à PD-1.

[00554] Vários antagonistas do ponto de verificação imune que inibem ou interrompem a interação entre PD-1 e um ou ambos de seus ligandos PD-L1 e PD-L2 estão em desenvolvimento clínico ou estão atualmente disponíveis para os médicos no tratamento de câncer.

[00555] Exemplos de anticorpos anti-PD-1 humanos, ou fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos, que podem compreender o antagonista de PD-1 em qualquer uma das composições, métodos e usos fornecidos pela divulgação incluem, mas não estão limitados a: KEYTRUDA® (pembrolizumabe, MK-3475, h409A11; ver US8952136,

US8354509, US8900587 e EP2170959, todos aqui incluídos por referência na sua totalidade; Merck), OPDIVO® (nivolumabe, BMS-936558, MDX-1106, ONO-4538; ver US7595048, US8728474, US9073994, US9067999, EP1537878, US8008449, US8779105 e EP2161336, todos aqui incluídos por referência na íntegra; Bristol Myers Squibb), MEDI0680 (AMP-514), BGB-A317 e BGB-108 (BeiGene), 244C8 e 388D4 (ver WO2016106159, que é incorporado aqui por referência na sua totalidade; Enumeral Biomedical), PDR001 (Novartis) e REGN2810 (Regeneron). Por conseguinte, em algumas modalidades o antagonista de PD-1 é pembrolizumabe. Em algumas modalidades, o antagonista da PD-1 é nivolumabe.

[00556] Exemplos de anticorpos anti-PD-L1 humanos, ou fragmentos de ligação ao antígeno, que podem compreender o antagonista de PD-1 em qualquer uma das composições, métodos e usos fornecidos pela divulgação incluem, mas não estão limitados a: BAVENCIO® (avelumabe, MSB0010718C, consulte WO2013/79174, que é incorporado aqui por referência na sua totalidade; Merck/Pfizer), IMFINZI® (durvalumabe, MEDI4736), TECENTRIQ® (atezolizumab, MPDL3280A, RG7446; consulte WO2010/077634, que é incorporado aqui por referência na sua totalidade; Roche), MDX-1105 (BMS-936559, 12A4; ver US7943743 e WO2013/173223, os quais são aqui incorporados por referência na sua totalidade; Medarex/BMS) e FAZ053 (Novartis). Por conseguinte, em algumas modalidades o antagonista de PD-1 é avelumabe. Em algumas modalidades, o antagonista de PD-1 é durvalumabe. Em algumas modalidades, o antagonista de PD-1 é atezolizumabe.

[00557] Em algumas modalidades, o antagonista de PD-1 é uma imunoadesina que se liga à PD-1 humana ou PD-L1 humana, por exemplo, uma proteína de fusão contendo a porção de ligação extracelular ou PD-1 de PD-L1 ou PD-L2 fundida a um região

constante, como uma região Fc de uma molécula de imunoglobulina. Exemplos de moléculas de imunoadesão que se ligam à PD-1 são descritos em WO2010/027827 e WO2011/066342, os quais são aqui incorporados por referência na sua totalidade. Em algumas modalidades, o antagonista de PD-1 é AMP-224 (também conhecido como B7-DCIg), que é uma proteína de fusão PD-L2-FC que se liga à PD-1 humana.

[00558] Será entendido por um versado na técnica que qualquer antagonista de PD-1 que se liga à PD-1 ou PD-L1 e interrompe a via de sinalização PD-1/PD-L1, é adequado para composições, métodos e usos aqui divulgados.

[00559] Em algumas modalidades, o antagonista de PD-1/PD-L1 é uma molécula pequena, um ácido nucleico, um peptídeo, um peptídeo mimético, uma proteína, um carboidrato, um derivado de carboidrato ou um glicopolímero. Inibidores de PD-1 de molécula pequena exemplificativos são descritos em Zhan et al., (2016) Drug Discov Today 21(6):1027-1036.

Combinações com inibidores de CD73

[00560] Em algumas modalidades, um anticorpo anti-CD39, ou uma porção de ligação ao antígeno do mesmo, fornecida pela divulgação é combinada (por exemplo, administrada em combinação) com um inibidor de CD73. Exemplos não limitativos de inibidores de CD73 incluem AB421 (Arcus), um anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, que se liga a CD73, como MEDI9447 (Medimmune), BMS-986179 (Bristol Meyers Squibb) ou como descrito em US2018/0009899 (Corvus), que é incorporado aqui por referência na sua totalidade.

Combinações com antagonistas dos receptores da adenosina A2A

[00561] Em algumas modalidades, um anticorpo anti-CD39, ou

porção de ligação ao antígeno do mesmo, fornecida pela divulgação é combinada (por exemplo, administrada em combinação) com um antagonista do receptor de adenosina A2A (A2AR). Exemplos não limitativos de antagonistas do A2AR incluem Preladenant/SCH 420814 (Merck/Schering, Número do Registro CAS: 377727-87-2), descrito em Hodgson et al., (2009) J Pharmacol Exp Ther 330 (1):294-303 e aqui incorporado por referência na sua totalidade; ST-4206 (Leadiant Biosciences), que é descrito em Pat. U.S. 9.133.197 e aqui incorporado por referência na sua totalidade; KW-6356 (Kyowa Hakko Kogyo), Tozadenant/SYN-115 (Acorda), Istradefylline/KW-6002 (Kyowa Hakko Kogyo, Número do Registro CAS: 155270-99-8), descrito em LeWitt et al., (2008) Ann Neurol 63(3):295-302 e é aqui incorporado por referência na sua totalidade; teofilina (Número de Registro CAS: 58-55-9), NIR178 (Novartis); AB928 (Arcus Biosciences), GBV-2034 (Globavir), Vipadenant (Redox/Juno), AZD4635/HTL-1071 (AstraZeneca/Heptares), descrito em WO2011/095625 e é aqui incorporado por referência na sua totalidade; CPI-444/V81444 (Corvus/Genentech), que é descrito em WO 2009/156737 e é aqui incorporado por referência na sua totalidade; e PBF509 (Palobiofarma/Novartis), descrito em US 8.796.284 e WO 2017/025918 e são aqui incorporados por referência na sua totalidade. Em algumas modalidades, um anticorpo anti-CD39, ou uma porção de ligação ao antígeno do mesmo, fornecida pela divulgação é combinada (por exemplo, administrada em combinação) com CPI-444.

[00562] Em algumas modalidades, o antagonista A2AR é um antagonista A2AR descrito em US8114845, US9029393, US20170015758 ou US20160129108, todos os quais são incorporados aqui por referência na sua totalidade.

[00563] Outros antagonistas A2AR exemplificativos incluem ATL-444, MSX-3, SCH-58261, SCH-412.348, SCH-442.416, VER-6623,

VER-6947, VER-7835, CGS-15943 ou ZM-241.385.

Combinações com inibidores de CTLA-4

[00564] Em algumas modalidades, um anticorpo anti-CD39, ou uma porção de ligação ao antígeno do mesmo, fornecida pela divulgação é combinada (por exemplo, administrada em combinação) com um inibidor de CTLA-4. Em algumas modalidades, o inibidor de CTLA-4 é um anticorpo, um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, uma imunoadesina, uma proteína de fusão ou um oligopeptídeo. Em algumas modalidades, o inibidor de CTLA-4 é Ipilimumabe (Yervoy®, Bristol-Myers Squibb). Em algumas modalidades, o inibidor de CTLA-4 é Tremelimumabe (Pfizer). O anticorpo Ipilimumabe e outros anticorpos anti-CTLA-4 são divulgados em U.S. 6.984.720, que é aqui incorporada por referência na sua totalidade. O anticorpo Tremelimumabe e outros anticorpos anti-CTLA-4 são divulgados em U.S. 7.411.057, que é aqui incorporada por referência na sua totalidade.

Combinações com inibidores TIM-3

[00565] Em algumas modalidades, um anticorpo anti-CD39, ou uma porção de ligação ao antígeno do mesmo, fornecida pela divulgação é combinada (por exemplo, administrada em combinação) com um inibidor de TIM-3. O inibidor de TIM-3 pode ser um anticorpo, um fragmento de ligação de antígeno, uma imunoadesina, uma proteína de fusão, ou um oligopeptídeo. Em algumas modalidades, o inibidor de TIM-3 é escolhido entre MGB453 (Novartis), TSR-022 (Tesaro) ou LY3321367 (Eli Lilly). Em algumas modalidades, o anticorpo anti-CD39, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, é administrado em combinação com MGB453. Em algumas modalidades, o anticorpo anti-CD39, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, é administrado em combinação com TSR-022.

Combinações com inibidores LAG-3

[00566] Em algumas modalidades, um anticorpo anti-CD39, ou uma porção de ligação ao antígeno do mesmo, fornecida pela divulgação é combinada (por exemplo, administrada em combinação) com um inibidor de LAG-3. O inibidor de LAG-3 pode ser um anticorpo, um fragmento de ligação de antígeno, uma imunoadesina, uma proteína de fusão, ou oligopeptídeo. Em algumas modalidades, o inibidor de LAG-3 é escolhido de LAG525 (Novartis), BMS-986016 (Bristol-Myers Squibb), TSR-033 (Tesaro), MK-4280 (Merck & Co) ou REGN3767 (Regeneron).

Combinações com terapia celular CAR

[00567] Em algumas modalidades, um anticorpo anti-CD39, ou porção de ligação ao antígeno do mesmo, é combinado (por exemplo, administrado em combinação) com um ou mais terapêuticos adicionais, em que os um ou mais terapêuticos adicionais compreendem uma célula, por exemplo, uma célula efetora imunológica, compreendendo um receptor de antígeno quimérico (CAR). Em algumas modalidades, o CAR compreende um domínio de ligação ao antígeno extracelular, um domínio transmembranar e um domínio de sinalização intracelular. Em algumas modalidades, o domínio de sinalização intracelular compreende um ou ambos de um domínio de sinalização primário e um domínio coestimulatório. Em algumas modalidades, o CAR pode ainda compreender uma sequência líder, opcionalmente, uma sequência de dobradiça. Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno se liga a um antígeno tumoral.

[00568] Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno que compreende o CAR pode ser qualquer domínio que se liga a um antígeno, incluindo, mas não limitado a, um anticorpo monoclonal, um anticorpo policlonal, um anticorpo recombinante, um anticorpo humano, um anticorpo humanizado e um fragmento

funcional ou porção do mesmo, incluindo, sem limitação, um anticorpo de domínio único, como um domínio variável de cadeia pesada (VH), um domínio variável de cadeia leve (VL) e um domínio variável (VHH) do nanocorpo derivado de camelídeo e a um andaime alternativo conhecido na técnica por funcionar como domínio de ligação ao antígeno. Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno do CAR é um fragmento de anticorpo scFv.

[00569] Em algumas modalidades, o CAR compreende um domínio de ligação ao antígeno que se liga a um antígeno tumoral selecionado do grupo que consiste em: CD19; CD123; CD22; CD30; CD171; CS-1 (também referido como CD2 subconjunto 1, CRACC, SLAMF7, CD319 e 19A24); molécula 1 semelhante a lectina do tipo C (CLL-1 ou CLECL1); CD33; variante III do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFRvIII); gangliosídeo G2 (GD2); gangliosídeo GD3 (aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGalp(l-4)bDGlcp(l-i)Cer); maturação de células B do membro da família do receptor de TNF (BCMA); antígeno Tn ((Tn Ag) or (GalNAca-Ser/Thr)); antígeno de membrana específico da próstata (PSMA); Receptor receptor órfão 1 do tipo tirosina quinase (ROR1); Tirosina quinase 3 semelhante a Fms (FLT3); Glicoproteína associada ao tumor 72 (TAG72); CD38; CD44v6; Antígeno Carcinoembrionário (CEA); Molécula de adesão de células epiteliais (EPCAM); B7H3 (CD276); KIT (CD117); Subunidade alfa-2 do receptor de interleucina-13 (IL-13Ra2 ou CD213A2); Mesotelina; Receptor alfa da interleucina 11 (IL-1 IRa); antígeno de células-tronco da próstata (PSCA); Protease Serina 21 (Testisina ou PRSS21); receptor 2 do fator de crescimento endotelial vascular (VEGFR2); antígeno de Lewis (Y); CD24; receptor beta do fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGFR-beta); antígeno embrionário específico de estágio 4 (SSEA-4); CD20; Receptor alfa de folato; Receptor tiroseno-proteína quinase ERBB2 (Her2/neu); Mucina 1, superfície celular associada

(MUC1); receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR); molécula de adesão de células neurais (NCAM); Prostase; fosfatase ácida prostática (PAP); fator de alongamento 2 mutado (ELF2M); Ephrin B2; proteína alfa de ativação de fibroblastos (FAP); receptor do fator de crescimento semelhante à insulina 1 (receptor IGF-I), anidrase carbônica IX (CAIX); Subunidade de Proteassoma (Prosoma, Macropaína), Tipo Beta, 9 (LMP2); glicoproteína 100 (gplOO); proteína de fusão oncogene que consiste em região de agrupamento de ponto de interrupção (BCR) e homólogo de oncogene viral de leucemia murina de Abelson 1 (Abl) (bcr-abl); tirosinase; receptor 2 de efrina tipo A (EphA2); Fucosil GM1; molécula de adesão de sialil Lewis (sLe); gangliosídeo GM3 (aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-4)bDGlcp(1-1)Cer); transglutaminase 5 (TGS5); antígeno associado ao melanoma de alto peso molecular (HMWMAA); gangliosídeo o-acetil-GD2 (OAcGD2); Beta receptor de folato; marcador endotelial tumoral 1 (TEM1/CD248); marcador endotelial tumoral relacionado com 7 (TEM7R); claudina 6 (CLDN6); receptor do hormônio estimulador da tireoide (TSHR); Receptor de classe C acoplado à proteína G, grupo 5, membro D (GPRC5D); estrutura de leitura aberto 61 do cromossomo X (CXORF61); CD97; CD179a; linfoma quinase anaplásico (ALK); Ácido polissiálico; específico da placenta 1 (PLAC1); porção hexassacarídea da glicoceramida globoH (GloboH); antígeno de diferenciação da glândula mamária (NY-BR-1); uroplacina 2 (UPK2); Receptor celular 1 do vírus da hepatite A (HAVCRl); adrenoceptor beta 3 (ADRB3); panexina 3 (PANX3); Receptor 20 acoplado à proteína G (GPR20); complexo de antígeno de linfócitos 6, locus K 9 (LY6K); Receptor olfativo 51E2 (OR51E2); Proteína de estrutura de leitura alternativa gama TCR (TARP); Proteína de tumor de Wilms (WT1); Antígeno 1 de câncer/testículo (NY-ESO-1); Antígeno 2 de câncer/testículo (LAGE-la); Antígeno 1 associado ao melanoma (MAGE-Al); Gene variante de

translocação ETS 6, localizado no cromossomo 12p (ETV6-AML); proteína 17 do esperma (SPA17); Família de Antígenos X, Membro 1A (XAGE1); receptor 2 da superfície celular de ligação à angiopoietina (Tie 2); antígeno-1 de testículo de câncer de melanoma (MAD-CT-1); antígeno-2 de testículo de câncer de melanoma (MAD-CT-2); Antígeno 1 relacionado com Fos; proteína tumoral p53 (p53); mutante p53; prosteína; sobrevida; telomerase; antígeno-1 de tumor de carcinoma da próstata (PCTA-1 ou Galectina 8), antígeno de melanoma reconhecido por células T 1 (MelanA ou MARTI); Mutante de sarcoma de rato (Ras); transcriptase reversa da telomerase humana (hTERT); pontos de corte de translocação de sarcoma; inibidor de apoptose de melanoma (ML-IAP); ERG (protease transmembranar, serina 2 (TMPRSS2) gene de fusão ETS); N-acetil glucosaminil-transferase V (NA17); proteína de caixa emparelhada Pax-3 (PAX3); Receptor de andrógeno; Ciclina B l; v-myc mielócito aviário de tomate sis homólogo derivado de neuroblastoma viral oncogene (MYCN); Membro da Família do homólogo Ras C (RhoC); Proteína 2 relacionada com a tirosinase (TRP-2); Citocromo P450 1B 1 (CYP1B 1); Fator de ligação a CCCTC semelhante a (Proteína de dedo de zinco) (BORIS ou Brother of the Regulator of Imprinted Sites), Antígeno de Carcinoma de Célula Escamosa Reconhecido por Células T 3 (SART3); Proteína de caixa emparelhada Pax-5 (PAX5); proteína de ligação à proacrosina sp32 (OY-TES 1); proteína tirosina quinase específica de linfócitos (LCK); Uma proteína âncora de quinase 4 (AKAP-4); sarcoma sinovial, X ponto de interrupção 2 (SSX2); Receptor para produtos finais de glicação avançada (RAGE-1); renal ubíquo 1 (RU1); renal ubíquo 2 (RU2); legumaína; vírus do papiloma humano E6 (HPV E6); vírus do papiloma humano E7 (HPV E7); carboxil esterase intestinal; proteína de choque térmico 70-2 mutada (mut hsp70-2); CD79a; CD79b; CD72; Receptor 1 do tipo imunoglobulina associado a leucócitos (LAIR1);

Fragmento Fc do receptor de IgA (FCAR ou CD89); Membro 2 da subfamília A do receptor semelhante a imunoglobulina de leucócitos (LILRA2); Membro da família f do tipo molécula CD300 (CD300LF); Membro A da família de domínio de lectina de tipo C 12 (CLEC12A); antígeno 2 de células estromais da medula óssea (BST2); Módulo semelhante a EGF contendo receptor de hormônio semelhante a mucina 2 (EMR2); antígeno linfocitário 75 (LY75); Glypican-3 (GPC3); receptor semelhante a Fc 5 (FCRL5); e polipeptídeo 1 do tipo lambda de imunoglobulina (IGLL1).

[00570] Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno do CAR se liga a CD19. Um CAR exemplificativo que se liga a CD19 é descrito em US2015/0283178 (por exemplo, CTL019), que é incorporado aqui por referência na sua totalidade. Em algumas modalidades, o CD19 CAR compreende uma sequência de aminoácidos mostrada em US2015/0283178 ou uma sequência substancialmente idêntica a ela (por exemplo, uma sequência com pelo menos cerca de 85%, 90% ou 95% de identidade de sequência).

[00571] Em uma modalidade, o CAR compreende um domínio transmembranar derivado de uma proteína selecionada do grupo que consiste em: a cadeia alfa, beta ou zeta do receptor de células T, CD28, CD3 epsilon, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137 e CD154.

[00572] Em algumas modalidades, o CAR compreende um domínio de sinalização intracelular derivado de uma proteína selecionada do grupo que consiste em: uma molécula de MHC classe I, uma proteína receptora de TNF, uma proteína semelhante à imunoglobulina, um receptor de citocinas, uma integrina, uma molécula de ativação linfocítica de sinalização (proteína SLAM), um receptor de célula NK ativadora, BTLA, um receptor de ligando Toll, OX40, CD2, CD7, CD27, CD28, CD30, CD40, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CDL la/CD18), 4-1BB

(CD137), B7-H3, CDS, ICAM-1, ICOS (CD278), GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8alfa, CD8beta, IL2R beta, IL2R gama, IL7R alfa, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CDL ld, ITGAE, CD103, ITGAL, CDL la, LFA-1, ITGAM, CDL lb, ITGAX, CDL lc, ITGB 1, CD29, ITGB2, CD 18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, NKG2C, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tátil), CEACAMl, CRT AM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Lyl08), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP- 76, PAG/Cbp, e CD19a.

[00573] Em modalidades de qualquer um dos métodos e composições aqui descritos, a célula compreendendo um CAR compreende um ácido nucleico que codifica o CAR. Numa modalidade, o ácido nucleico que codifica o CAR é um vetor lentiviral. Numa modalidade, o ácido nucleico que codifica o CAR é introduzido nas células por transdução lentiviral. Numa modalidade, o ácido nucleico que codifica o CAR é um RNA, por exemplo, um RNA transcrito in vitro. Numa modalidade, o ácido nucleico que codifica o CAR é introduzido nas células por eletroporação.

[00574] Células efetoras imunológicas, como células T, podem ser ativadas e expandidas geralmente usando métodos como descrito, por exemplo, nas Patentes U.S. 6.352.694; 6.534.055; 6.905.680; 6.692.964; 5.858.358; 6.887.466; 6.905.681; 7.144.575; 7.067.318; 7.172.869; 7.232.566; 7.175.843; 5.883.223; 6.905.874; 6.797.514; 6.867.041; e Publicação de Pedido de Patente U.S. 2006/0121005, aqui incorporada por referência.

[00575] Exemplos de células efetoras imunes incluem células T, por exemplo, células T alfa/beta e células T gama/delta, células B, células assassinas naturais (NK), células assassinas naturais T (NKT),

mastócitos e fagócitos derivados de mieloide.

[00576] Os métodos de produção de células que expressam CAR são descritos, por exemplo, em US 2016/0185861, aqui incorporado por referência.

[00577] Monitorar um indivíduo (por exemplo, um paciente humano) em busca de uma melhora em um câncer, como aqui definido, significa avaliar o indivíduo em busca de uma alteração no parâmetro da doença, por exemplo, uma redução no crescimento do tumor. Em algumas modalidades, a avaliação é realizada pelo menos uma (1) hora, por exemplo, pelo menos 2, 4, 6, 8, 12, 24 ou 48 horas, ou pelo menos 1 dia, 2 dias, 4 dias, 10 dias, 13 dias, 20 dias ou mais, ou pelo menos 1 semana, 2 semanas, 4 semanas, 10 semanas, 13 semanas, 20 semanas ou mais, após uma administração. O indivíduo pode ser avaliado em um ou mais dos seguintes períodos: antes do início do tratamento; durante o tratamento; ou após a administração de um ou mais elementos do tratamento. A avaliação pode incluir avaliar a necessidade de tratamento adicional, por exemplo, avaliar se uma dosagem, frequência de administração ou duração do tratamento deve ser alterada. Também pode incluir a avaliação da necessidade de adicionar ou eliminar uma modalidade terapêutica selecionada, por exemplo, adicionar ou eliminar qualquer um dos tratamentos para um câncer aqui descrito.

[00578] Em algumas modalidades, um anticorpo anti-CD39 ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo aqui descrito pode ser empregado em métodos de detecção e/ou quantificação de CD39 humano em uma amostra biológica. Por exemplo, CD39 foi identificado como um potencial marcador de diagnóstico, prognóstico e progressão de doenças (Pulte et al., (2011) Clin Lymphoma Myeloma Leuk 11:367-372; Fan et al., (2017) Biomark Med 11:107-116; Zhao et al., (2017) Front Immunol 8:727)

[00579] Por conseguinte, um anticorpo anti-CD39, ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, como descrito aqui é útil para diagnosticar, prognosticar e/ou determinar a progressão da doença (por exemplo, câncer) em um paciente.

EXEMPLOS:

[00580] Embora a presente divulgação tenha sido descrita com referência às modalidades específicas da mesma, deve ser compreendido por aqueles versados na técnica que várias mudanças podem ser feitas e equivalentes podem ser substituídos sem afastamento do verdadeiro espírito e escopo da divulgação. Além disso, podem ser feitas muitas modificações para adaptar uma situação particular, material, composição de matéria, processo, etapas ou etapas de processo, ao objetivo, espírito e âmbito da presente divulgação. Todas essas modificações devem estar dentro do escopo da divulgação.

Exemplo 1: Métodos

Preparação do Antígeno

[00581] Os antígenos CD39 (CD39 recombinante; sistemas R&D cat. # 4397-EN) foram biotinilados usando o Kit EZ-Link Sulfo-NHS-Biotinilação da Pierce. $F(ab')_2$ de cabra anti-kappa-FITC humana (LC-FITC), ExtrAvidin-PE (EA-PE) e Streptavidin-AF633 (SA-633) foram obtidos da Southern Biotech, Sigma e Molecular Probes, respectivamente. As colunas de separação Streptavidin MicroBeads e MACS LC foram adquiridas na Miltenyi Biotec. O IgG-PE de cabra anti-humano (PE humano) foi obtido da Southern Biotech.

Descoberta primária

[00582] Oito bibliotecas de levedura sintética humana ingênua, cada uma com diversidade de ~ 10^9 foram propagadas como descrito anteriormente (ver, por exemplo, Y. Xu et al, Addressing polyspecificity of antibodies selected from an in vitro yeast presentation system: a

FACS-based, high-throughput selection and analytical tool. *PEDS* **26.10**, 663-70 (2013); WO2009036379; WO2010105256; e WO2012009568.) Nas duas primeiras rodadas de seleção, foi realizada uma técnica de classificação de esferas magnéticas utilizando o sistema Miltenyi MACS, conforme descrito anteriormente (consulte, por exemplo, Siegel et al, High efficiency recovery and epitope-specific sorting of an scFv yeast display library." *J Immunol Methods* **286(1-2)**, 141-153 (2004).) Resumidamente, células de levedura (~ 10^{10} células/biblioteca) foram incubadas com 5 ml de 100 nM de antígeno biotinilado por 30 min a 30°C em tampão de lavagem (solução salina tamponada com fosfato (PBS)/0,1% de albumina de soro bovino (BSA)). Após lavagem uma vez com 40 ml de tampão de lavagem gelada, o pelete celular foi ressuspenso em 20 ml de tampão de lavagem e Streptavidin MicroBeads (500 µl) foi adicionada à levedura e incubada por 15 min a 4°C. Em seguida, as leveduras foram peletizadas, ressuspensas em 20 mL de tampão de lavagem e carregadas em uma coluna Miltenyi LS. Após os 20 mL terem sido carregados, a coluna foi lavada 3 vezes com 3 mL de tampão de lavagem. A coluna foi então removida do campo magnético e a levedura foi eluída com 5 ml de meio de crescimento e depois cultivada durante a noite. As seguintes rodadas de seleção foram realizadas usando citometria de fluxo. Aproximadamente 2 x10^7 leveduras foram peletizadas, lavadas três vezes com tampão de lavagem e incubadas a 30°C com concentrações decrescentes de antígeno biotinilado (200 a 5 nM) em condições de equilíbrio, 200 nM de antígenos biotinilados de espécies de camundongos para obter reatividade cruzada de espécies ou com um reagente de depleção de poliespecificidade (PSR) para remover anticorpos não específicos da seleção. Para a depleção de PSR, as bibliotecas foram incubadas com uma diluição de 1:10 do reagente de PSR biotinilado, conforme

descrito anteriormente (consulte, por exemplo, Y. Xu et al, Addressing polyspecificity of antibodies selected from an in vitro yeast presentation system: a FACS-based, high-throughput selection and analytical tool. *PEDS* **26.10**, 663-70 (2013).) A levedura foi então lavada duas vezes com tampão de lavagem e corada com LC-FITC (diluído 1:100) e com os reagentes secundários SA-633 (diluído 1:500) ou EAPE (diluído 1:50) por 15 min a 4°C. Após lavagem duas vezes com tampão de lavagem, os peletes celulares foram ressuspensos em 0,3 mL de tampão de lavagem e transferidos para tubos do tipo com tampa filtrante. A classificação foi realizada usando um classificador FACS ARIA (BD Biosciences) e as portas de classificação foram determinadas para selecionar anticorpos com as características desejadas. As rodadas de seleção foram repetidas até que uma população com todas as características desejadas fosse obtida. Após a rodada final de classificação, leveduras foram semeadas e colônias individuais foram colhidas para caracterização.

Embaralhamento de lote de cadeia leve

[00583] O protocolo de diversificação de cadeia leve foi utilizado durante a fase primária de descoberta para posterior descoberta e aprimoramento de anticorpos.

[00584] Protocolo de diversificação de lote de cadeia leve: plasmídeos de cadeia pesada de uma saída de seleção ingênua foram extraídos da levedura por meio de esmagamento e captura, propagados e subsequentemente purificados de E. coli e transformados em uma biblioteca de cadeia leve com uma diversidade de 5×10^6. As seleções foram realizadas com uma rodada de MACS e três rodadas de FACS, conforme descrito na descoberta ingênua. Nas diferentes rondas FACS, as bibliotecas foram analisadas quanto à ligação de PSR, reatividade cruzada de espécies e pressão de afinidade por titulação de antígeno. A triagem foi realizada para obter

uma população com as características desejadas.

Otimização de anticorpos

[00585] A otimização de anticorpos foi realizada através da introdução de diversidades nas regiões variáveis de cadeia pesada, conforme descrito abaixo.

[00586] Seleção de CDRH1 e CDRH2: O CDRH3 de um único anticorpo foi recombinado em uma biblioteca pré-fabricada com variantes de CDRH1 e CDRH2 de uma diversidade de 1×10^8 e as seleções foram realizadas com uma rodada de MACS e quatro rodadas de FACS conforme descrito na descoberta ingênua. Nas diferentes rondas FACS, as bibliotecas foram analisadas quanto à ligação de PSR, reatividade cruzada de espécies e pressão de afinidade por titulação, e a classificação foi realizada para obter uma população com as características desejadas.

Produção e Purificação de Anticorpos

[00587] Os clones de levedura foram cultivados até à saturação e depois induzidos durante 48 h a 30°C com agitação. Após indução, as células de levedura foram peletizadas e os sobrenadantes foram recolhidos para purificação. As IgGs foram purificadas usando uma coluna de Proteína A e eluídas com ácido acético, pH 2,0. Os fragmentos Fab foram gerados por digestão com papaína e purificados sobre KappaSelect (GE Healthcare LifeSciences).

Medições de ForteBio K_D :

[00588] As medições de afinidade ForteBio foram realizadas em um Octet RED384 geralmente conforme descrito anteriormente (ver, por exemplo, Estep et al, High throughput solution-based measurement of antibody-antigen affinity and epitope binning. *Mabs* **5(2)**, 270-278 (2013)). Resumidamente, as medições de afinidade da ForteBio foram realizadas carregando IgGs on-line em sensores AHC. Os sensores foram equilibrados off-line em tampão de ensaio durante 30 min e

depois monitorizados on-line durante 60 segundos para o estabelecimento da linha de base. Os sensores com IgGs carregadas foram expostos ao antígeno 100 nM por 3 minutos e depois foram transferidos para o tampão de teste por 3 min para medição da taxa off. Todas as cinéticas foram analisadas usando o modelo de ligação 1:1.

ForteBio Armazenamento de epítopo/Bloqueio de Ligando

[00589] O Armazenamento de epítopo/Bloqueio de Ligando foi realizado usando um ensaio de bloqueio cruzado em formato sanduíche padrão . A IgG anti-alvo de controle foi carregada nos sensores AHQ e os sítios de ligação a Fc desocupados no sensor foram bloqueados com um anticorpo IgG1 humano irrelevante. Os sensores foram então expostos ao antígeno alvo 100 nM, seguido por um segundo anticorpo ou ligando anti-alvo. A ligação adicional pelo segundo anticorpo ou ligando após a associação do antígeno indica um epítopo desocupado (não concorrente), enquanto nenhuma ligação indica bloqueio do epítopo (bloqueio do competidor ou ligando).

Ensaio cinético MSD-SET

[00590] Medições de afinidade de equilíbrio realizadas conforme descrito anteriormente (Estep *et al.*, 2013). As titulações de equilíbrio da solução (SET) foram realizadas em PBS + 0,1% de BSA livre de IgG (PBSF) com o antígeno mantido constante a 10-100 pM e incubado com diluições em série de 3 a 5 vezes de anticorpo começando em 5 - 100 nM (condição experimental depende da amostra). Anticorpos (20 nM em PBS) foram revestidos sobre placas de MSD-ECL de ligação padrão durante a noite a 4°C ou temperatura ambiente durante 30 min. As placas foram então bloqueadas durante 30 min com agitação a 700 rpm,seguido por três lavagens com tampão de lavagem (PBSF + 0,05% de Tween 20). Amostras SET foram aplicadas e incubadas nas placas por 150s com agitação a 700 rpm

seguido de uma lavagem. O antígeno capturado numa placa foi detectado com 250 ng/mL de estreptavidina marcada com sulfotag em PBSF por incubação na placa durante 3 min. As placas foram lavadas três vezes com tampão de lavagem e depois lidas no instrumento MSD Sector Imager 2400 utilizando 1x de Tampão de Leitura T com tensoativo. O porcentual de antígeno livre foi representado graficamente em função do anticorpo titulado em Prism e ajustado a uma equação quadrática para extrair o K_D. Para melhorar o rendimento, robôs de manuseio de líquidos foram utilizados em experimentos MSD-SET, incluindo preparação de amostras SET.

Análise de Ligação Celular

[00591] Aproximadamente 100.000 células que superexpressam o antígeno foram lavadas com tampão de lavagem e incubadas com 100 ul de IgG 100 nM por 5 minutos em temperatura ambiente. As células foram então lavadas duas vezes com tampão de lavagem e incubadas com 100 ul de 1:100 Human-PE durante 15 minutos em gelo. As células foram então lavadas duas vezes com tampão de lavagem e analisadas em um analisador FACS Canto II (BD Biosciences).

Exemplo 2: Efeito de anticorpos anti-CD39 em células dendríticas

[00592] Para determinar um efeito dos anticorpos anti-CD39 nas células dendríticas, foi determinado o nível de expressão de CD86, uma proteína transmembranar que fornece um sinal coestimulatório necessário para a ativação e sobrevida das células T. Monócitos de 3 doadores saudáveis foram tratados com GM-CSF (50 ng/mL) (sistemas R&D) e IL-4 (10 ng/mL) (sistemas R&D) por 4 dias a 37C em RPMI-1640 + 10% de FBS + 1% de Penicilina-estreptomicina (R10) (Life Technologies) para gerar células dendríticas imaturas. As células dendríticas foram lavadas e ressuspensas em R10 suplementado com GM-CSF (50 ng/mL) e IL-4 (10 ng/mL). 5 x 10^4 células dendríticas foram adicionadas a cada poço de uma placa de fundo em U de 96

poços. As células dendríticas foram incubadas com anticorpo de controle de isótipo ou anticorpos anti-CD39 (10 µg/mL), como indicado na FIG. 1A, por 1h a 37C. Após 1 h, R10 com ou sem suplementação de ATP foi adicionado às células e posteriormente incubado por 24 h. As células dendríticas foram coradas com anticorpos contra CD86 e CD11c (Biolegend). As células foram adquiridas usando um LSRFortessa X-20 (BD Biosciences) e analisadas com o software FlowJo (Tree Star). A quantificação da expressão de CD86 (GeoMean) em células dendríticas derivadas de cada doador é mostrada.

[00593] Como mostrado na FIG. 1A, o tratamento de células dendríticas com anticorpos anti-CD39 SRF370-A, SRF367-A, SRF365-A e SRF367-B na presença de ATP resultou em um aumento na expressão de CD86 maior do que no tratamento com anticorpos de controle de isótipo DNP-A e DNP-B. Estes resultados demonstram que o tratamento de células dendríticas com anticorpos anti-CD39 intensifica a expressão de CD86 induzida por ATP.

[00594] Para avaliar ainda mais os efeitos dos anticorpos anti-CD39 nas células dendríticas, o nível de expressão de CD86 e do antígeno leucocitário humano - relacionado ao antígeno D (HLA-DR), um receptor da superfície celular do MHC classe II, foi determinado essencialmente como descrito acima. As células dendríticas foram tratadas com o anticorpo anti-CD39 SRF367-A ou um anticorpo de controle de isótipo (DNP-A) na presença ou ausência de ATP, como indicado na FIG. 1B.

[00595] Como mostrado na FIG. 1B, o tratamento de células dendríticas com o anticorpo anti-CD39 SRF367-A na presença de ATP resultou em um aumento na expressão de HLA-DR e CD86 que foi maior do que com o tratamento com o anticorpo de controle de isótipo DNP-A. Consistente com os resultados mostrados na FIG. 1A, estes resultados mostrados na FIG. 1B demonstram que o tratamento de

células dendríticas com o anticorpo anti-CD39 SRF367-A intensifica a expressão de CD86 e HLA-DR induzida por ATP.

[00596] Para determinar o efeito dos anticorpos anti-CD39 na secreção de citocinas, a secreção de citocinas IL-16, IL-12/IL-23p40 e VEGFA das mesmas células dendríticas da FIG. 1B foi determinado. Os sobrenadantes das culturas celulares dendríticas tratadas foram diluídos 1:2 e um protocolo do kit U-plex Meso Scale Discovery (MSD) foi seguido de acordo com as instruções do fabricante. A secreção de VEGF-A, IL-12/IL-23p40 e IL-16 foi quantificada usando o software MSD de acordo com as instruções do fabricante.

[00597] Como mostrado nas FIG.s 1C, 1D e 1E, o tratamento de células dendríticas com o anticorpo anti-CD39 SRF367-A na presença de ATP resultou em um aumento na secreção de IL-16 (FIG. 1C), IL-12 / IL-23p40 (FIG. 1D) e IL-16 (FIG. 1E) que foi maior do que com o tratamento do anticorpo de controle de isótipo DNP-A. Estes resultados mostrados nas FIG.s 1C, 1D e 1E demonstram que o tratamento de células dendríticas com o anticorpo anti-CD39 SRF367-A intensifica a secreção induzida por ATP de citocinas IL-16, IL-12/IL-23p40 e VEGFA, respectivamente.

Exemplo 3: Efeito de anticorpos anti-CD39 na proliferação de células T CD4+

[00598] Para determinar um efeito do tratamento com anticorpos anti-CD39 em células T CD4+, a quantidade de proliferação de células T CD4+ *in vitro* em resposta ao tratamento com uma faixa de concentrações de anticorpos anti-CD39 (SRF367-A, SRF367-B e SRF370-A) ou anticorpos de controle de isótipo (DNP-A e DNP-B) foram determinados. As células CD4+ de PBMCs recentes de sangue de doador humano foram coradas com coloração violeta de traço celular antes da semeadura em placas de 96 poços. As células foram incubadas com 250 μM de ATP, esferas anti-CD3/CD28 para estimular

as células T e anticorpos anti-CD39 ou de controle de isótipo, conforme indicado na **FIG. 2**, durante 3 dias, e o índice de proliferação para cada tratamento com anticorpo foi quantificado por citometria de fluxo, medindo a quantidade de violeta de traço celular remanescente nas células. As células também foram coradas para CD4 para confirmar a linhagem de células T. Como mostrado na **FIG. 2**, o índice de proliferação de células T CD4+ em resposta ao ATP é aumentado na presença de anticorpos anti-CD39.

Exemplo 4: Efeito de anticorpos anti-CD39 na atividade CD39 em células malignas e imunológicas

[00599] CD39 é uma ectonucleosidase ligada à membrana que converte adenosina trifosfato (ATP) e adenosina difosfato (ADP) em adenosina monofosfato (AMP). A capacidade dos anticorpos anti-CD39 para inibir a atividade enzimática do CD39 em linhagens de células malignas e células imunes primárias foi medida usando um ensaio de fosfato verde de malaquita. Resumidamente, as células foram tratadas por 60 min. com anticorpos anti-CD39 ou anticorpo de controle e 25 μM ATP. A liberação de fosfato inorgânico a partir de ATP foi medida utilizando um kit de ensaio de fosfato verde de malaquita (Enzo Life Sciences, Catalog # BML-AK111). A porcentagem de inibição normalizada (% INH) foi determinada usando 'controle de tempo zero' para representar 100% de inibição e um 'controle sem anticorpo' para representar 0% de INH. O 'controle do tempo zero' é um poço com todos os reagentes em que a reação é interrompida imediatamente para imitar condições em que nenhum fosfato é gerado e o CD39 é completamente inibido. O 'controle sem anticorpo' é um poço em que todos os reagentes e células são adicionados, mas nenhum anticorpo está presente. Este poço imita condições em que a quantidade máxima de fosfato é liberada e não há inibição do CD39. Para determinar a porcentagem de inibição: o valor

'controle sem anticorpo' é subtraído do valor do ensaio e dividido pelo valor 'controle sem anticorpo' subtraído do valor de 'controle de tempo zero'. O valor resultante é multiplicado por 100 para fornecer um valor porcentual. MOLP-8 (linhagem celular de mieloma múltiplo humano), SK-MEL-28, células B humanas primárias (isoladas de sangue total) ou monócitos humanos primários (isoladas de sangue total) foram utilizadas neste ensaio.

[00600] Como mostrado na FIG. 3A, tratamento de células MOLP-8 (uma linhagem celular de mieloma múltiplo humano) com uma faixa de concentrações de anticorpos anti-CD39 (SRF360-A, SRF360-B, SRF365-A, SRF367-A, SRF367-B e SRF370- A) ou um anticorpo de controle, como indicado, na presença de ATP resultou em uma inibição dependente da dose da atividade de CD39 por todos os anticorpos anti-CD39 testados. A inibição da atividade de CD39 foi determinada pela extensão do fosfato inorgânico liberado e expresso como % de inibição (% de INH).

[00601] Como mostrado na FIG. 3B, tratamento de células SK-MEL-28 (uma linhagem celular de melanoma humano) com uma faixa de concentrações de anticorpos anti-CD39 (SRF360-A, SRF360-B, SRF365-A, SRF367-A, SRF367-B e SRF370 -A) ou um anticorpo de controle, como indicado, na presença de ATP resultou em uma inibição dependente da dose da atividade de CD39 por todos os anticorpos anti-CD39 testados, consistente com os resultados mostrados na FIG. 3A. A inibição da atividade de CD39 foi determinada pela extensão do fosfato inorgânico liberado e expresso como % de inibição (% de INH).

[00602] Como mostrado na FIG. 3C, tratamento de células B humanas primárias isoladas de sangue total com uma faixa de concentrações de anticorpos anti-CD39 (SRF360-C, SRF365-C, SRF367-C e SRF370-C) ou um anticorpo de controle, como indicado,

na presença de ATP resultou em uma inibição dependente da dose da atividade de CD39 por todos os anticorpos anti-CD39 testados, consistente com os resultados vistos nas FIGURAS 3A e 3B. A inibição da atividade de CD39 foi determinada pela extensão do fosfato inorgânico liberado e expresso como % de inibição (% de INH).

[00603] Como mostrado na FIG. 3D, tratamento de monócitos humanos primários isolados do sangue total com uma faixa de concentrações de anticorpos anti-CD39 (SRF360-C, SRF365-C, SRF367-C e SRF370-C) ou um anticorpo de controle, como indicado, na presença de ATP resultou em uma inibição dependente da dose da atividade de CD39 por todos os anticorpos anti-CD39 testados, consistente com os resultados observados nas FIG.s 3A e 3B. A inibição da atividade de CD39 foi determinada pela extensão do fosfato inorgânico liberado e expresso como % de inibição (% de INH).

[00604] Tomados em conjunto, estes resultados demonstram que o tratamento de células imunes e malignas com anticorpos anti-CD39 inibe a atividade enzimática do CD39.

Exemplo 5: Anticorpos anti-CD39 se ligam a células cancerígenas humanas

[00605] Para determinar a extensão relativa da ligação dos anticorpos anti-CD39 às células, as células MOLP-8 ou SK-MEL-28 foram tratadas com uma faixa de concentrações de anticorpos anti-CD39 marcados com fluorescência (SRF360-A, SRF360-B, SRF365 - A, SRF367-A, SRF367-B e SRF370-A) ou anticorpos de controle de isótipo (DNP-A e DNP-B), como indicado nas FIGS. 4A e 4B. A extensão da ligação às células foi determinada e expressa como intensidade fluorescente média (MFI). As células foram lavadas com tampão FACS (2 mM EDTA, 2% FBS) e peletizadas por centrifugação. As células foram ressuspensas em tampão FACS contendo uma faixa de doses de anticorpos anti-CD39 ou controle de isótipo marcados

diretamente com fluoróforo Alexa Fluor 488 (AF488) e incubadas por 30 minutos em temperatura ambiente. As células foram então lavadas duas vezes com tampão FACS seguido de fixação em paraformaldeído a 4% (PFA) e ressuspensas em tampão FACS e analisadas em um analisador FACS Canto II (BD Biosciences).

[00606] Como mostrado na FIG. 4A, os anticorpos anti-CD39 SRF360-A e SRF360-B se ligam às células SK-MEL-28 de uma maneira dependente da dose. Anticorpos anti-CD39 SRF365-A, SRF367-A, SRF367-B e SRF370-A ligados a SK-MEL-28 em menor extensão em relação a SRF360-A e SRF360-B, mas em maior extensão em relação aos anticorpos de controle de isótipo. Como mostrado na FIG. 4B, os anticorpos anti-CD39 SRF360-A e SRF360-B se ligam às células MOLP-8 de uma maneira dependente da dose. Os anticorpos anti-CD39 SRF365-A, SRF367-A, SRF367-B e SRF370-A se ligam à SK-MEL-28 em menor extensão em relação a SRF360-A e SRF360-B, mas em maior extensão em relação aos anticorpos de controle de isótipo, consistentes com os resultados mostrados na **FIG. 4A**.

Exemplo 6: Eficácia de anticorpos anti-CD39 em camundongos portadores de tumor

[00607] Dados os efeitos dos anticorpos anti-CD39 nas células malignas e imunológicas in vitro, como mostrado nos Exemplos 1-4, os anticorpos anti-CD39 foram testados quanto à atividade antitumoral contra tumores estabelecidos in vivo. Os camundongos portadores de tumores SK-MEL-28 foram tratados com SRF367-B ou um anticorpo de controle de isótipo, como indicado na FIG. 5A e 5B, e o crescimento do tumor foi medido. O modelo de xenoenxerto humano SK-MEL-28 foi escolhido porque expressa grandes quantidades de CD39. Camundongos CB17SCID (n = 9 por grupo) (Charles River Labs) foram implantados s.c. no flanco direito com 5x106 células tumorais

SK-MEL-28 em Matrigel a 50% (Thermo Fisher). Os xenoenxertos tumorais foram medidos três vezes por semana, medindo os diâmetros perpendiculares do tumor (mm) e os volumes tumorais foram calculados usando a equação V = ((LxWxW) x 0,52) em que V é o volume do tumor (mm3), L é o diâmetro longo e W é o diâmetro curto. Quando os tumores SK-MEL-28 atingiram um tamanho médio de 100 mm3, os animais foram divididos em dois grupos de 9 camundongos para dosagem com SRF367-B ou anticorpo policlonal de controle de isótipo de IgG humana. Todos os anticorpos foram doseados por via intraperitoneal (i.p.) a 400 µg/BIW de camundongo em 100 µl de PBS por um total de 5 injeções (Dias 1, 5, 8, 12 e 15).

[00608] A taxa média de crescimento de tumores SK-MEL-28 de camundongos tratados com SRF367-B (FIG. 5B) foi consistentemente mais lenta em comparação com tumores de animais tratados com o controle de isótipo (FIG. 5A). Estes resultados demonstram que o tratamento de camundongos portadores de tumor com o anticorpo anti-CD39 retarda o crescimento de tumores de xenoenxerto humano que expressam CD39 estabelecidos.

Exemplo 7: Efeito do anticorpo anti-PD-1 na expressão de CD39 em PBMCs humanas

[00609] Para determinar o efeito da inibição de PD-1 na expressão de CD39 em populações de células imunes derivadas de PBMC, as PBMCs foram isoladas do sangue total de 5 doadores humanos separados. As PBMCs foram incubadas em meio de cultura celular completo (10% de FBS, RPMI ou meio de cultura celular completo suplementado com 10 ug/ml de anticorpo anti-PD-1 Nivolumab) por 96 horas. As células foram lavadas, coradas e fixadas para análise por citometria de fluxo para determinar a porcentagem de células CD39 positivas. Marcadores de linhagem foram utilizados para discriminar Tregs (CD3, CD4 e FoxP3); Monócitos (CD14); e células B (CD19).

Como mostrado na **FIG. 6**, a expressão de CD39 aumentou em todos os tipos de células, em todos os doadores na presença de Nivolumabe, indicando que o tratamento com um anticorpo anti-PD-1 aumenta a expressão de CD39 em células humanas. Assim, o aumento da expressão de CD39 em indivíduos tratados com anti-PD1 (ou anti-PD-L1) pode ser o mecanismo pelo qual os indivíduos se tornam resistentes à terapia anti-PD1. O tratamento desses indivíduos com anticorpos anti-CD39 aqui divulgados é fornecido.

Exemplo 8: Distribuição de afinidades de ligação de anticorpos anti-CD39

[00610] As afinidades de ligação de anticorpos anti-CD39 (SRF360, SRF365, SRF367, SRF370, SRF399) foram determinadas medindo suas constantes cinéticas (k_a, k_d, K_D) usando um ForteBio Octet RED384 (Pall Forte Bio Corporation, Menlo Park, CA) geralmente conforme descrito anteriormente (Estep et al. (2013) Mabs 5(2):270-278, que é incorporado aqui por referência na sua totalidade).

[00611] As medições de afinidade por ForteBio foram realizadas carregando IgGs on-line nos sensores AHQ. Os sensores foram equilibrados off-line em tampão de ensaio durante 30 min e depois monitorizados on-line durante 60 segundos para o estabelecimento da linha de base. Os sensores com IgGs carregadas foram expostos ao antígeno 100 nM por 3 minutos e depois foram transferidos para o tampão de teste por 3 minutos para medição da taxa off. Todas as cinéticas foram analisadas usando o modelo de ligação 1:1. CD39-His humano livre de transportador, sem domínios transmembranares foram utilizados como o antígeno (R&D Systems Cat: 4397-EN-010).

[00612] As medições de afinidade do equilíbrio foram realizadas conforme descrito anteriormente (Estep et al., (2013) Mabs 5(2):270-278). As titulações de equilíbrio da solução (SET) foram realizadas em PBS + 0,1% de BSA livre de IgG (PBSF) com o antígeno mantido

constante a 10-100 pM e incubado com diluições em série de 3 a 5 vezes de anticorpo começando em 5-100 nM (condições experimentais depende da amostra). Anticorpos (20 nM em PBS) foram revestidos sobre placas de MSD-ECL de ligação padrão durante a noite a 4°C ou temperatura ambiente durante 30 minutos. As placas foram então bloqueadas durante 30 min com agitação a 700 rpm,seguido por três lavagens com tampão de lavagem (PBSF + 0,05% de Tween 20). Amostras SET foram aplicadas e incubadas nas placas por 150 segundos com agitação a 700 rpm seguido de uma lavagem. O antígeno capturado numa placa foi detectado com 250 ng/mL de estreptavidina marcada com sulfotag em PBSF por incubação na placa durante 3 min. As placas foram lavadas três vezes com tampão de lavagem e depois lidas no instrumento MSD Sector Imager 2400 utilizando 1x de Tampão de Leitura T com tensoativo. O porcentual de antígeno livre foi representado graficamente em função do anticorpo titulado em Graphpad Prism e ajustado a uma equação quadrática para extrair o KD. Para melhorar o rendimento, robôs de manuseio de líquidos foram utilizados em experimentos MSD-SET, incluindo preparação de amostras SET. O CD39-His humano livre de transportador, sem domínios transmembranares, foi biotinilado e utilizado como o antígeno (R&D Systems Cat: 4397-EN-010). As medições de afinidade de Fortebio e MSD para os anticorpos anti-CD39 são fornecidas na FIG. 7.

Exemplo 9: Efeito sinérgico do anticorpo anti-CD39 e doxorrubicina em um modelo murino MOLP-8 de mieloma múltiplo humano

[00613] Para determinar o(s) efeito(s) antitumoral(is) da combinação da inibição de CD39 com um agente imunogênico de morte celular, o anticorpo anti-CD39 SRF367-A em combinação com doxorrubicina foi avaliado em um modelo de mieloma múltiplo humano

de xenoenxerto subcutâneo MOLP-8 em camundongos imunodeficientes combinados graves (SCID). Resumidamente, camundongos SCID com 6-8 semanas de idade (Charles River Labs) foram inoculados por injeção subcutânea no flanco direito com 1x107 células tumorais MOLP-8 em 0,1 mL de PBS misturado com Matrigel (1:1) e randomizados em 4 grupos de tratamento quando os tumores atingiram um volume médio de aproximadamente 100 mm3. Os grupos (n = 10 camundongos cada) foram tratados intraperitonealmente (i.p.) com um anticorpo de controle de isótipo (DNP-A), um anticorpo anti-CD39 (SRF367-A) isolado (400 µg ou 20 mg/kg) duas vezes por semana, durante 3 semanas, Aldoxorrubicina isolada (um pró-fármaco doxorrubicina que libera doxorrubicina livre no ambiente do tumor) (200 µg ou 10 mg/kg) uma vez por semana durante 3 semanas ou ambos SRF367-A e Aldoxorubicina em combinação. Todos os anticorpos testados foram formulados em PBS (Gibco). A solução-mãe de aldoxorrubicina (100 mg/mL) foi preparada em DMSO e diluída para 1 mg/mL em PBS. A atividade antitumoral foi determinada, em parte, medindo o tamanho do tumor (comprimento e largura) usando um paquímetro Vernier e o volume do tumor foi calculado usando a seguinte fórmula: (L*W*W)/2. O peso corporal (dados não mostrados) e os volumes do tumor foram determinados duas vezes por semana até o dia 19. Para a análise do volume tumoral, uma análise Anova de uma via foi realizada para testar a significância estatística de cada grupo em comparação ao controle ($p < 0,005$).

[00614] A FIG. 8A mostra volumes médios de tumor em camundongos ao longo do tempo após o tratamento, conforme indicado. Setas pretas indicam tratamento com SRF367-A e setas cinza indicam tratamento com aldoxorrubicina. A FIG. 8B mostra os volumes médios de tumor em camundongos no dia 19 após o tratamento, como indicado.

[00615] O tratamento com o anticorpo anti-CD39 SRF367-A, isolado ou em combinação com doxorrubicina, demonstrou uma redução estatisticamente significativa no volume do tumor em comparação com o tratamento com o anticorpo de controle de isótipo DNP-A no dia 19, como mostrado na FIG. 8B ($p < 0,005$). Foi observada alguma perda de peso após 3 doses no braço isolado da doxorrubicina, mas não foi observada perda significativa no peso corporal no braço combinado em comparação à doxorrubicina isolada e o tratamento com anticorpo anti-CD39 por si só não causou perda de peso corporal (dados não mostrados).

[00616] Estes dados demonstram que o tratamento com um anticorpo anti-CD39 em combinação com a doxorrubicina resulta em um efeito antitumoral sinérgico, reduzindo o volume do tumor em maior extensão quando comparado ao tratamento com o anticorpo anti-CD39 ou doxorrubicina isolada.

Exemplo 10: Efeito sinérgico do anticorpo anti-CD39 e do antagonista do receptor de adenosina A2A (A2AR) em um modelo de xenoenxerto MOLP-8 de mieloma múltiplo humano

[00617] Para determinar o(s) efeito(s) antitumoral(is) da combinação da inibição de CD39 com outro agente que bloqueia a via da adenosina, a atividade antitumoral do anticorpo anti-CD39 SRF367-A em combinação com o antagonista da A2AR CPI-444 foi avaliada em um modelo de mieloma múltiplo humano de xenoenxerto MOLP-8 subcutâneo em camundongos imunodeficientes combinados graves (SCID). Resumidamente, camundongos SCID com 6-8 semanas de idade (Charles River Labs) foram inoculados por injeção subcutânea no flanco direito com 1x107 células tumorais MOLP-8 em 0,1 mL de PBS misturado com Matrigel (1:1) e randomizados em 4 grupos de tratamento quando os tumores atingiram um volume médio de aproximadamente 100 mm3. Os grupos (n = 8 camundongos cada)

foram tratados intraperitonealmente (i.p.) com controle de isótipo (DNP-A), anticorpo anti-CD39 sozinho (400 µg ou 20 mg/kg) duas vezes por semana durante 3 semanas ou em combinação com CPI-444. O CPI-444 foi administrado por via oral na dose de 100 mg/kg, 5 dias por semana, durante 3 semanas. Todos os anticorpos testados foram formulados em PBS (Gibco). A solução estoque de CPI-444 (10 mg/ml) foi preparada em hidroxipropil b-ciclodextrina a 40% em ácido clorídrico 0,1 N, misturada em uma placa agitadora e filtrada através de um filtro de 0,45 mm. A solução foi ajustada com hidróxido de sódio 1,0 N e ácido cítrico 1,0 mol/L para pH 3-4. A atividade antitumoral foi determinada, em parte, medindo o tamanho do tumor (comprimento e largura) usando um paquímetro Vernier e o volume do tumor foi calculado usando a seguinte fórmula: (L*W*W)/2. O peso corporal (dados não mostrados) e os volumes do tumor foram determinados três vezes por semana até o dia 28. Para a análise do volume tumoral, foi realizada uma Anova de uma via para testar a significância estatística de cada grupo em comparação ao controle e aos braços de tratamento com um único agente. ($p < 0,005$).

[00618] Os volumes médios de tumor de camundongos tratados são mostrados na FIG. 9. Esses dados indicam que o tratamento com um anticorpo anti-CD39 (SRF367-A) em combinação com um antagonista A2AR (CPI-444) leva a um efeito antitumoral sinérgico, reduzindo o volume do tumor quando comparado ao tratamento com um anticorpo anti-CD39 ou CPI-444 isolado. O tratamento com todos os agentes de teste (anticorpo anti-CD39 e CPI-444), isoladamente ou em combinação, demonstrou eficácia antitumoral estatisticamente significativa em comparação ao controle do isótipo ($p < 0,005$). Foi observada alguma perda de peso após uma semana no braço isolado de CPI-444, mas não foi observada perda significativa no peso corporal no braço combinado em comparação à CPI-444 isolada e o

tratamento com anticorpo anti-CD39 por si só não causou perda de peso corporal (dados não mostrados).

TABELA 1: LISTAGEM DE SEQUÊNCIAS

NT = não tradicional

SRF365-C		
SEQ ID NO: 1	HCDR1 (IMGT)	GGTFSDKA
SEQ ID NO: 2	HCDR2 (IMGT)	ILPIFGTA
SEQ ID NO: 3	HCDR3 (IMGT)	AREAGYYRYRYFDL
SEQ ID NO: 4	HCDR1 (NT)	GTFSDKAIS
SEQ ID NO: 5	HCDR2 (NT)	SILPIFGTANYAQKFQG
SEQ ID NO: 6	HCDR3 (NT)	AREAGYYRYRYFDL
SEQ ID NO: 7	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSDKAI SWVRQAPGQGLEWMGSILPIFGTANYAQKFQGRV TITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREAGYY RYRYFDLWGRGTLVTVSS
SEQ ID NO: 8	DNA VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGT GAAGAAGCCTGGGTCCTCGGTGAAGGTCTCCTG CAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCAGCGATAAGGC TATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGG GCTTGAGTGGATGGGATCGATCCTTCCTATCTTT GGTACAGCAAACTACGCACAGAAGTTCCAGGGC AGAGTCACGATTACCGCGGACGAATCCACGAGC ACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCT GAGGACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAGAA GCCGGATACTACCGCTACCGATACTTCGACCTAT GGGGGAGAGGTACCTTGGTCACCGTCTCCTCA
SEQ ID NO: 9	CADEIA PESADA	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSDKAI SWVRQAPGQGLEWMGSILPIFGTANYAQKFQGRV TITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREAGYY RYRYFDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 10	CADEIA PESADA DE DNA	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGT GAAGAAGCCTGGGTCCTCGGTGAAGGTCTCCTG CAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCAGCGATAAGGC TATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGG GCTTGAGTGGATGGGATCGATCCTTCCTATCTTT GGTACAGCAAACTACGCACAGAAGTTCCAGGGC AGAGTCACGATTACCGCGGACGAATCCACGAGC ACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCT GAGGACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAGAA GCCGGATACTACCGCTACCGATACTTCGACCTAT GGGGGAGAGGTACCTTGGTCACCGTCTCCTCAG CGAGCACCAAAGGCCCGAGCGTGTTTCCGCTGG CGCCGAGCAGCAAAAGCACCAGCGGCGGCACC GCGGCGCTGGGCTGCCTGGTGAAAGATTATTTT CCGGAACCGGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGG CGCGCTGACCAGCGGCGTGCATACCTTTCCGGC GGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTATAGCCTGAG CAGCGTGGTGACCGTGCCGAGCAGCAGCCTGG GCACCCAGACCTATATTTGCAACGTGAACCATAA ACCGAGCAACACCAAAGTGGATAAAAAAGTGGA ACCGAAAAGCTGCGATAAAACCCATACCTGCCC GCCGTGCCCGGCGCCGGAACTGCTGGGCGGCC CGAGCGTGTTTCTGTTTCCGCCGAAACCGAAAG ATACCCTGATGATTAGCCGCACCCCGGAAGTGA CCTGCGTGGTGGTGGATGTGAGCCATGAAGATC CGGAAGTGAAATTTAACTGGTATGTGGATGGCG TGGAAGTGCATAACGCGAAAACCAAACCGCGCG AAGAACAGTATAACAGCACCTATCGCGTGGTGA GCGTGCTGACCGTGCTGCATCAGGATTGGCTGA ACGGCAAAGAATATAAATGCAAAGTGAGCAACAA AGCGCTGCCGGCGCCGATTGAAAAAACCATTAG CAAAGCGAAAGGCCAGCCGCGCGAACCGCAGG TGTATACCCTGCCGCCGAGCCGCGATGAACTGA CCAAAAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTGA AAGGCTTTTATCCGAGCGATATTGCGGTGGAAT GGGAAAGCAACGGCCAGCCGGAAAACAACTATA AAACCACCCCGCCGGTGCTGGATAGCGATGGCA GCTTTTTTCTGTATAGCAAACTGACCGTGGATAA AAGCCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTAGCTG CAGCGTGATGCATGAAGCGCTGCATAACCATTAT ACCCAGAAAAGCCTGAGCCTGAGCCCGGGCAAA
SEQ ID NO: 11	LCDR1 (IMGT)	QSVSSN
SEQ ID NO: 12	LCDR2 (IMGT)	GAS
SEQ ID NO: 13	LCDR3 (IMGT)	QQHALWPLT

SEQ ID NO: 14	LCDR1 (NT)	RASQSVSSNLA
SEQ ID NO: 15	LCDR2 (NT)	GASTRAT
SEQ ID NO: 16	LCDR3 (NT)	QQHALWPLT
SEQ ID NO: 17	VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAW YQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTE FTLTISSLQSEDFAVYYCQQHALWPLTFGGGTKVEI K
SEQ ID NO: 18	DNA VL	GAAATAGTGATGACGCAGTCTCCAGCCACCCTG TCTGTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCC TGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCACCAGGGCC ACTGGTATCCCAGCCAGGTTCAGTGGCAGTGGG TCTGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCAGC CTGCAGTCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTC AGCAGCACGCCCTCTGGCCTCTCACTTTTGGCG GAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA
SEQ ID NO: 19	CADEIA LEVE	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAW YQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTE FTLTISSLQSEDFAVYYCQQHALWPLTFGGGTKVEI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
SEQ ID NO: 20	CADEIA LEVE DE DNA	GAAATAGTGATGACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTC TGTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCA GGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAACTTAGCCTGG TACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCT CATCTATGGTGCATCCACCAGGGCCACTGGTATCC CAGCCAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGA GTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGTCTGAAG ATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCACGCCCTCT GGCCTCTCACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAG ATCAAACGTACGGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTCAT CTTCCCACCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCA CCGCCTCCGTCGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTAC CCTCGCGAGGCCAAAGTGCAGTGGAAAGTGGACAA CGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTCA CCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTG TCCTCCACCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGA GAAGCACAAAGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACC AGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTTCAAC CGGGGCGAGTGC

SRF365-D		
SEQ ID NO: 21	CADEIA PESADA	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGG TFSDKAISWVRQAPGQGLEWMGSILPIFG TANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSS LRSEDTAVYYCAREAGYYRYRYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSES TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT KTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPC PSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
SEQ ID NO: 22	CADEIA PESADA DE DNA	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGC TGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCGGT GAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGG CACCTTCAGCGATAAGGCTATCAGCTG GGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGC TTGAGTGGATGGGATCGATCCTTCCTAT CTTTGGTACAGCAAACTACGCACAGAA GTTCCAGGGCAGAGTCACGATTACCGC GGACGAATCCACGAGCACAGCCTACAT GGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGA CACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAGA AGCCGGATACTACCGCTACCGATACTT CGACCTATGGGGGAGAGGTACCTTGGT CACCGTCTCCTCAGCTTCCACCAAGGG CCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCCTTG CTCCCGGTCCACCTCCGAGTCTACCGC CGCTCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTA CTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCCTG GAACTCTGGCGCCCTGACCTCCGGCGT

		GCACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTC CTCCGGCCTGTACTCCCTGTCCAGCGT CGTGACCGTGCCCTCCTCCAGCCTGGG CACCAAGACCTACACCTGTAACGTGGA CCACAAGCCCTCCAACACCAAAGTGGA CAAGCGGGTGGAATCTAAGTACGGCCC TCCCTGCCCTTCCTGCCCTGCCCCTGA GTTCCTGGGCGGACCTTCCGTGTTCCT GTTCCCTCCAAAGCCCAAGGACACCCT GATGATCTCCCGGACCCCTGAAGTGAC CTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCAGG AAGATCCCGAAGTCCAGTTCAATTGGTA CGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACG CCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAACAGT TCAACTCCACCTACCGGGTGGTGTCCG TGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGC TGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAAG TGTCCAACAAGGGCCTGCCCTCCAGCA TCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAGG GCCAGCCCCGCGAGCCCCAAGTGTAC ACCCTGCCTCCCAGCCAGGAAGAGATG ACCAAGAATCAAGTGTCCCTGACTTGTC TGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATA TCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGC CAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACC CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCC TTCTTCCTGTACTCTCGGCTGACCGTG GACAAGTCCCGGTGGCAGGAAGGCAA CGTCTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGA GGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAA GTCCCTGTCCCTGTCTCTGGGC

SRF365-A		
SEQ ID NO: 23	CADEIA PESADA	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGG TFSDKAISWVRQAPGQGLEWMGSILPIFG TANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSS LRSEDTAVYYCAREAGYYRYRYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSES TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT KTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPC PPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
SEQ ID NO: 24	CADEIA PESADA DE DNA	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGC TGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCGGT GAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGG CACCTTCAGCGATAAGGCTATCAGCTG GGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGC TTGAGTGGATGGGATCGATCCTTCCTAT CTTTGGTACAGCAAACTACGCACAGAA GTTCCAGGGCAGAGTCACGATTACCGC GGACGAATCCACGAGCACAGCCTACAT GGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGA CACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAGA AGCCGGATACTACCGCTACCGATACTT CGACCTATGGGGGAGAGGTACCTTGGT CACCGTCTCCTCAGCTTCCACCAAGGG CCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCCTTG CTCCCGGTCCACCTCCGAGTCTACCGC CGCTCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTA CTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCCTG GAACTCTGGCGCCCTGACCTCCGGCGT

		GCACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTC CTCCGGCCTGTACTCCCTGTCCAGCGT CGTGACCGTGCCCTCCTCCAGCCTGGG CACCAAGACCTACACCTGTAACGTGGA CCACAAGCCCTCCAACACCAAAGTGGA CAAGCGGGTGGAATCTAAGTACGGCCC TCCCTGCCCTCCTTGCCCTGCCCCTGA GTTCCTGGGCGGACCTTCCGTGTTCCT GTTCCCTCCAAAGCCCAAGGACACCCT GATGATCTCCCGGACCCCTGAAGTGAC CTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCAGG AAGATCCCGAAGTCCAGTTCAATTGGTA CGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACG CCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAACAGT TCAACTCCACCTACCGGGTGGTGTCCG TGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGC TGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAAG TGTCCAACAAGGGCCTGCCCTCCAGCA TCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAGG GCCAGCCCCGCGAGCCCCAAGTGTAC ACCCTGCCTCCCAGCCAGGAAGAGATG ACCAAGAATCAAGTGTCCCTGACTTGTC TGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATA TCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGC CAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACC CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCC TTCTTCCTGTACTCTCGGCTGACCGTG GACAAGTCCCGGTGGCAGGAAGGCAA CGTCTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGA GGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAA GTCCCTGTCCCTGTCTCTGGGC

SRF365-B		
SEQ ID NO: 25	CADEIA PESADA	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGG TFSDKAISWVRQAPGQGLEWMGSILPIFG TANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSS LRSEDTAVYYCAREAGYYRYRYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSES TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT KTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPC PPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
SEQ ID NO: 26	CADEIA PESADA DE DNA	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGC TGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCGGT GAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGG CACCTTCAGCGATAAGGCTATCAGCTG GGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGC TTGAGTGGATGGGATCGATCCTTCCTAT CTTTGGTACAGCAAACTACGCACAGAA GTTCCAGGGCAGAGTCACGATTACCGC GGACGAATCCACGAGCACAGCCTACAT GGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGA CACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAGA AGCCGGATACTACCGCTACCGATACTT CGACCTATGGGGGAGAGGTACCTTGGT CACCGTCTCCTCAGCTTCCACCAAGGG CCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCCTTG CTCCCGGTCCACCTCCGAGTCTACCGC CGCTCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTA CTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCCTG GAACTCTGGCGCCCTGACCTCCGGCGT

		GCACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTC CTCCGGCCTGTACTCCCTGTCCAGCGT CGTGACCGTGCCCTCCTCCAGCCTGGG CACCAAGACCTACACCTGTAACGTGGA CCACAAGCCCTCCAACACCAAAGTGGA CAAGCGGGTGGAATCTAAGTACGGCCC TCCCTGCCCTCCTTGCCCTGCCCCTGA GTTCGAGGGCGGACCTTCCGTGTTCCT GTTCCCTCCAAAGCCCAAGGACACCCT GATGATCTCCCGGACCCCTGAAGTGAC CTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCAGG AAGATCCCGAAGTCCAGTTCAATTGGTA CGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACG CCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAACAGT TCAACTCCACCTACCGGGTGGTGTCCG TGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGC TGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAAG TGTCCAACAAGGGCCTGCCCTCCAGCA TCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAGG GCCAGCCCCGCGAGCCCCAAGTGTAC ACCCTGCCTCCCAGCCAGGAAGAGATG ACCAAGAATCAAGTGTCCCTGACTTGTC TGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATA TCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGC CAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACC CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCC TTCTTCCTGTACTCTCGGCTGACCGTG GACAAGTCCCGGTGGCAGGAAGGCAA CGTCTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGA GGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAA GTCCCTGTCCCTGTCTCTGGGC

SRF367-C		
SEQ ID NO: 27	HCDR1 (IMGT)	GGTFSSEG
SEQ ID NO: 28	HCDR2 (IMGT)	ILPIFGTA
SEQ ID NO: 29	HCDR3 (IMGT)	AREAGYYRYRYFDL
SEQ ID NO: 30	HCDR1 (NT)	GTFSSEGIS
SEQ ID NO: 31	HCDR2 (NT)	SILPIFGTANYAQKFQG
SEQ ID NO: 32	HCDR3 (NT)	AREAGYYRYRYFDL
SEQ ID NO: 33	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGG TFSSEGISWVRQAPGQGLEWMGSILPIF GTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELS SLRSEDTAVYYCAREAGYYRYRYFDLWG KGTLVTVSS
SEQ ID NO: 34	DNA VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGC TGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCGGT GAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGG CACCTTCAGCAGCGAGGGTATCAGCTG GGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGC TTGAGTGGATGGGAAGTATCTTGCCTAT CTTTGGTACAGCAAACTACGCACAGAA GTTCCAGGGCAGAGTCACGATTACCGC GGACGAATCCACGAGCACAGCCTACAT GGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGA CACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAGA AGCCGGATACTACCGCTACCGATACTT CGACCTATGGGGGAAAGGTACCTTGGT CACCGTCTCCTCA
SEQ ID NO: 35	CADEIA PESADA	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGG TFSSEGISWVRQAPGQGLEWMGSILPIF GTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELS SLRSEDTAVYYCAREAGYYRYRYFDLWG KGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM

		ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 36	CADEIA PESADA DE DNA	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGC TGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCGGT GAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGG CACCTTCAGCAGCGAGGGTATCAGCTG GGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGC TTGAGTGGATGGGAAGTATCTTGCCTAT CTTTGGTACAGCAAACTACGCACAGAA GTTCCAGGGCAGAGTCACGATTACCGC GGACGAATCCACGAGCACAGCCTACAT GGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGA CACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAGA AGCCGGATACTACCGCTACCGATACTT CGACCTATGGGGGAAAGGTACCTTGGT CACCGTCTCCTCAGCGAGCACCAAAGG CCCGAGCGTGTTTCCGCTGGCGCCGA GCAGCAAAAGCACCAGCGGCGGCACC GCGGCGCTGGGCTGCCTGGTGAAAGA TTATTTTCCGGAACCGGTGACCGTGAG CTGGAACAGCGGCGCGCTGACCAGCG GCGTGCATACCTTTCCGGCGGTGCTGC AGAGCAGCGGCCTGTATAGCCTGAGCA GCGTGGTGACCGTGCCGAGCAGCAGC CTGGGCACCCAGACCTATATTTGCAAC GTGAACCATAAACCGAGCAACACCAAA GTGGATAAAAAAGTGGAACCGAAAAGC TGCGATAAAACCCATACCTGCCCGCCG TGCCCGGCGCCGGAACTGCTGGGCGG CCCGAGCGTGTTTCTGTTTCCGCCGAA ACCGAAAGATACCCTGATGATTAGCCG

		CACCCCGGAAGTGACCTGCGTGGTGGT GGATGTGAGCCATGAAGATCCGGAAGT GAAATTTAACTGGTATGTGGATGGCGT GGAAGTGCATAACGCGAAAACCAAACC GCGCGAAGAACAGTATAACAGCACCTA TCGCGTGGTGAGCGTGCTGACCGTGCT GCATCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGA ATATAAATGCAAAGTGAGCAACAAAGC GCTGCCGGCGCCGATTGAAAAAACCAT TAGCAAAGCGAAAGGCCAGCCGCGCG AACCGCAGGTGTATACCCTGCCGCCGA GCCGCGATGAACTGACCAAAAACCAGG TGAGCCTGACCTGCCTGGTGAAAGGCT TTTATCCGAGCGATATTGCGGTGGAAT GGGAAAGCAACGGCCAGCCGGAAAAC AACTATAAAACCACCCCGCCGGTGCTG GATAGCGATGGCAGCTTTTTTCTGTATA GCAAACTGACCGTGGATAAAAGCCGCT GGCAGCAGGGCAACGTGTTTAGCTGCA GCGTGATGCATGAAGCGCTGCATAACC ATTATACCCAGAAAAGCCTGAGCCTGA GCCCGGGCAAA
SEQ ID NO: 37	LCDR1 (IMGT)	QSVSSN
SEQ ID NO: 38	LCDR2 (IMGT)	GAS
SEQ ID NO: 39	LCDR3 (IMGT)	QQHALWPLT
SEQ ID NO: 40	LCDR1 (NT)	RASQSVSSNLA
SEQ ID NO: 41	LCDR2 (NT)	GASTRAT
SEQ ID NO: 42	LCDR3 (NT)	QQHALWPLT
SEQ ID NO: 43	VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSV SSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGI PARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYY CQQHALWPLTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 44	DNA VL	GAAATAGTGATGACGCAGTCTCCAGCC ACCCTGTCTGTGTCTCCAGGGGAAAGA GCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAG

		AGTGTTAGCAGCAACTTAGCCTGGTAC CAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAG GCTCCTCATCTATGGTGCATCCACCAG GGCCACTGGTATCCCAGCCAGGTTCAG TGGCAGTGGGTCTGGGACAGAGTTCAC TCTCACCATCAGCAGCCTGCAGTCTGA AGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAG CACGCCCTCTGGCCTCTCACTTTTGGC GGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA
SEQ ID NO: 45	CADEIA LEVE	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSS NLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFS GSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQHALW PLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 46	CADEIA LEVE DE DNA	GAAATAGTGATGACGCAGTCTCCAGCCACC CTGTCTGTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACC CTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGC AGCAACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCT GGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGT GCATCCACCAGGGCCACTGGTATCCCAGC CAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAG AGTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGT CTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCA GCACGCCCTCTGGCCTCTCACTTTTGGCGG AGGGACCAAGGTTGAGATCAAACGTACGGT GGCCGCTCCCTCCGTGTTCATCTTCCCACC CTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCG CCTCCGTCGTGTGCCTGCTGAACAACTTCT ACCCTCGCGAGGCCAAAGTGCAGTGGAAA GTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTC CCAGGAATCCGTCACCGAGCAGGACTCCAA GGACAGCACCTACTCCCTGTCCTCCACCCT GACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGC ACAAAGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACC AGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCC TTCAACCGGGGCGAGTGC

SRF367-D		
SEQ ID NO: 47	CADEIA PESADA	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGG TFSSEGISWVRQAPGQGLEWMGSILPIF GTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELS SLRSEDTAVYYCAREAGYYRYRYFDLWG KGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSE STAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPP CPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
SEQ ID NO: 48	CADEIA PESADA DE DNA	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGC TGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCGGT GAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGG CACCTTCAGCAGCGAGGGTATCAGCTG GGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGC TTGAGTGGATGGGAAGTATCTTGCCTAT CTTTGGTACAGCAAACTACGCACAGAA GTTCCAGGGCAGAGTCACGATTACCGC GGACGAATCCACGAGCACAGCCTACAT GGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGA CACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAGA AGCCGGATACTACCGCTACCGATACTT CGACCTATGGGGGAAAGGTACCTTGGT CACCGTCTCCTCAGCTTCCACCAAGGG CCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCCTTG CTCCCGGTCCACCTCCGAGTCTACCGC CGCTCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTA

		CTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCCTG GAACTCTGGCGCCCTGACCTCCGGCGT GCACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTC CTCCGGCCTGTACTCCCTGTCCAGCGT CGTGACCGTGCCCTCCTCCAGCCTGGG CACCAAGACCTACACCTGTAACGTGGA CCACAAGCCCTCCAACACCAAAGTGGA CAAGCGGGTGGAATCTAAGTACGGCCC TCCCTGCCCTTCCTGCCCTGCCCCTGA GTTCCTGGGCGGACCTTCCGTGTTCCT GTTCCCTCCAAAGCCCAAGGACACCCT GATGATCTCCCGGACCCCTGAAGTGAC CTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCAGG AAGATCCCGAAGTCCAGTTCAATTGGTA CGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACG CCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAACAGT TCAACTCCACCTACCGGGTGGTGTCCG TGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGC TGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAAG TGTCCAACAAGGGCCTGCCCTCCAGCA TCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAGG GCCAGCCCCGCGAGCCCCAAGTGTAC ACCCTGCCTCCCAGCCAGGAAGAGATG ACCAAGAATCAAGTGTCCCTGACTTGTC TGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATA TCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGC CAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACC CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCC TTCTTCCTGTACTCTCGGCTGACCGTG GACAAGTCCCGGTGGCAGGAAGGCAA CGTCTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGA GGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAA GTCCCTGTCCCTGTCTCTGGGC

SRF367-A		
SEQ ID NO: 49	CADEIA PESADA	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGG TFSSEGISWVRQAPGQGLEWMGSILPIF GTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELS SLRSEDTAVYYCAREAGYYRYRYFDLWG KGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSE STAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPP CPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
SEQ ID NO: 50	CADEIA PESADA DE DNA	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGC TGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCGGT GAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGG CACCTTCAGCAGCGAGGGTATCAGCTG GGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGC TTGAGTGGATGGGAAGTATCTTGCCTAT CTTTGGTACAGCAAACTACGCACAGAA GTTCCAGGGCAGAGTCACGATTACCGC GGACGAATCCACGAGCACAGCCTACAT GGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGA CACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAGA AGCCGGATACTACCGCTACCGATACTT CGACCTATGGGGGAAAGGTACCTTGGT CACCGTCTCCTCAGCTTCCACCAAGGG CCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCCTTG CTCCCGGTCCACCTCCGAGTCTACCGC CGCTCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTA CTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCCTG GAACTCTGGCGCCCTGACCTCCGGCGT

		GCACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTC CTCCGGCCTGTACTCCCTGTCCAGCGT CGTGACCGTGCCCTCCTCCAGCCTGGG CACCAAGACCTACACCTGTAACGTGGA CCACAAGCCCTCCAACACCAAAGTGGA CAAGCGGGTGGAATCTAAGTACGGCCC TCCCTGCCCTCCTTGCCCTGCCCCTGA GTTCCTGGGCGGACCTTCCGTGTTCCT GTTCCCTCCAAAGCCCAAGGACACCCT GATGATCTCCCGGACCCCTGAAGTGAC CTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCAGG AAGATCCCGAAGTCCAGTTCAATTGGTA CGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACG CCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAACAGT TCAACTCCACCTACCGGGTGGTGTCCG TGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGC TGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAAG TGTCCAACAAGGGCCTGCCCTCCAGCA TCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAGG GCCAGCCCCGCGAGCCCCAAGTGTAC ACCCTGCCTCCCAGCCAGGAAGAGATG ACCAAGAATCAAGTGTCCCTGACTTGTC TGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATA TCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGC CAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACC CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCC TTCTTCCTGTACTCTCGGCTGACCGTG GACAAGTCCCGGTGGCAGGAAGGCAA CGTCTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGA GGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAA GTCCCTGTCCCTGTCTCTGGGC

SRF367-B		
SEQ ID NO: 51	CADEIA PESADA	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGG TFSSEGISWVRQAPGQGLEWMGSILPIF GTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELS SLRSEDTAVYYCAREAGYYRYRYFDLWG KGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSE STAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPP CPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
SEQ ID NO: 52	CADEIA PESADA DE DNA	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGC TGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCGGT GAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGG CACCTTCAGCAGCGAGGGTATCAGCTG GGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGC TTGAGTGGATGGGAAGTATCTTGCCTAT CTTTGGTACAGCAAACTACGCACAGAA GTTCCAGGGCAGAGTCACGATTACCGC GGACGAATCCACGAGCACAGCCTACAT GGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGA CACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAGA AGCCGGATACTACCGCTACCGATACTT CGACCTATGGGGGAAAGGTACCTTGGT CACCGTCTCCTCAGCTTCCACCAAGGG CCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCCTTG CTCCCGGTCCACCTCCGAGTCTACCGC CGCTCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTA CTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCCTG GAACTCTGGCGCCCTGACCTCCGGCGT

		GCACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTC CTCCGGCCTGTACTCCCTGTCCAGCGT CGTGACCGTGCCCTCCTCCAGCCTGGG CACCAAGACCTACACCTGTAACGTGGA CCACAAGCCCTCCAACACCAAAGTGGA CAAGCGGGTGGAATCTAAGTACGGCCC TCCCTGCCCTCCTTGCCCTGCCCCTGA GTTCGAGGGCGGACCTTCCGTGTTCCT GTTCCCTCCAAAGCCCAAGGACACCCT GATGATCTCCCGGACCCCTGAAGTGAC CTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCAGG AAGATCCCGAAGTCCAGTTCAATTGGTA CGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACG CCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAACAGT TCAACTCCACCTACCGGGTGGTGTCCG TGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGC TGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAAG TGTCCAACAAGGGCCTGCCCTCCAGCA TCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAGG GCCAGCCCCGCGAGCCCCAAGTGTAC ACCCTGCCTCCCAGCCAGGAAGAGATG ACCAAGAATCAAGTGTCCCTGACTTGTC TGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATA TCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGC CAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACC CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCC TTCTTCCTGTACTCTCGGCTGACCGTG GACAAGTCCCGGTGGCAGGAAGGCAA CGTCTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGA GGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAA GTCCCTGTCCCTGTCTCTGGGC

SRF370-C		
SEQ ID NO: 53	HCDR1 (IMGT)	GGTFSTYA
SEQ ID NO:54	HCDR2 (IMGT)	IIPAFGTA
SEQ ID NO: 55	HCDR3 (IMGT)	ARDPVRRSPFDI
SEQ ID NO: 56	HCDR1 (NT)	GTFSTYAIG
SEQ ID NO: 57	HCDR2 (NT)	GIIPAFGTANYAQKFQG
SEQ ID NO: 58	HCDR3 (NT)	ARDPVRRSPFDI
SEQ ID NO: 59	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGG TFSTYAIGWVRQAPGQGLEWMGGIIPAF GTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELS SLRSEDTAVYYCARDPVRRSPFDIWGQG TMVTVSS
SEQ ID NO: 60	DNA VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGC TGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCGGT GAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGG CACCTTCAGCACGTATGCTATCGGGTG GGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGC TTGAGTGGATGGGAGGGATCATCCCTG CGTTTGGTACAGCAAACTACGCACAGA AGTTCCAGGGCAGAGTCACGATTACCG CGGACGAATCCACGAGCACAGCCTACA TGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGG ACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAG ATCCGGTGAGAAGAAGCCCATTCGACA TATGGGGTCAGGGTACAATGGTCACCG TCTCCTCA
SEQ ID NO: 61	CADEIA PESADA	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGG TFSTYAIGWVRQAPGQGLEWMGGIIPAF GTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELS SLRSEDTAVYYCARDPVRRSPFDIWGQG TMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM

		ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 62	CADEIA PESADA DE DNA	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGC TGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCGGT GAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGG CACCTTCAGCACGTATGCTATCGGGTG GGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGC TTGAGTGGATGGGAGGGATCATCCCTG CGTTTGGTACAGCAAACTACGCACAGA AGTTCCAGGGCAGAGTCACGATTACCG CGGACGAATCCACGAGCACAGCCTACA TGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGG ACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAG ATCCGGTGAGAAGAAGCCCATTCGACA TATGGGGTCAGGGTACAATGGTCACCG TCTCCTCAGCGAGCACCAAAGGCCCGA GCGTGTTTCCGCTGGCGCCGAGCAGC AAAAGCACCAGCGGCGGCACCGCGGC GCTGGGCTGCCTGGTGAAAGATTATTT TCCGGAACCGGTGACCGTGAGCTGGAA CAGCGGCGCGCTGACCAGCGGCGTGC ATACCTTTCCGGCGGTGCTGCAGAGCA GCGGCCTGTATAGCCTGAGCAGCGTG GTGACCGTGCCGAGCAGCAGCCTGGG CACCCAGACCTATATTTGCAACGTGAAC CATAAACCGAGCAACACCAAAGTGGAT AAAAAAGTGGAACCGAAAAGCTGCGAT AAAACCCATACCTGCCCGCCGTGCCCG GCGCCGGAACTGCTGGGCGGCCCGAG CGTGTTTCTGTTTCCGCCGAAACCGAA AGATACCCTGATGATTAGCCGCACCCC

		GGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGT GAGCCATGAAGATCCGGAAGTGAAATT TAACTGGTATGTGGATGGCGTGGAAGT GCATAACGCGAAAACCAAACCGCGCGA AGAACAGTATAACAGCACCTATCGCGT GGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCATCA GGATTGGCTGAACGGCAAAGAATATAA ATGCAAAGTGAGCAACAAAGCGCTGCC GGCGCCGATTGAAAAAACCATTAGCAA AGCGAAAGGCCAGCCGCGCGAACCGC AGGTGTATACCCTGCCGCCGAGCCGC GATGAACTGACCAAAAACCAGGTGAGC CTGACCTGCCTGGTGAAAGGCTTTTAT CCGAGCGATATTGCGGTGGAATGGGAA AGCAACGGCCAGCCGGAAAACAACTAT AAAACCACCCCGCCGGTGCTGGATAGC GATGGCAGCTTTTTTCTGTATAGCAAAC TGACCGTGGATAAAAGCCGCTGGCAGC AGGGCAACGTGTTTAGCTGCAGCGTGA TGCATGAAGCGCTGCATAACCATTATAC CCAGAAAAGCCTGAGCCTGAGCCCGG GCAAA
SEQ ID NO: 63	LCDR1 (IMGT)	QSVSSY
SEQ ID NO: 64	LCDR2 (IMGT)	DSS
SEQ ID NO: 65	LCDR3 (IMGT)	QQSFLWPRT
SEQ ID NO: 66	LCDR1 (NT)	RASQSVSSYLA
SEQ ID NO: 67	LCDR2 (NT)	DSSNRAT
SEQ ID NO: 68	LCDR3 (NT)	QQSFLWPRT
SEQ ID NO: 69	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSV SSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDSSNRATGI PARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYY CQQSFLWPRTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 70	DNA VL	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCC ACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGA GCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAG TGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAACA

		GAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGATTCATCCAACAGGGCCACTGGCAT CCCAGCCAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTG GGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCC TAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTG TCAGCAGTCCTTCCTCTGGCCTAGGACTTT TGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA
SEQ ID NO: 71	CADEIA LEVE	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSY LAWYQQKPGQAPRLLIYDSSNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSFLW PRTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 72	CADEIA LEVE DE DNA	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACC CTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACC CTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGC AGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCT GGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGAT TCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCC AGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGA CTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCC TGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAG TCCTTCCTCTGGCCTAGGACTTTTGGCGGA GGGACCAAGGTTGAGATCAAACGTACGGTG GCCGCTCCCTCCGTGTTCATCTTCCCACCC TCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGC CTCCGTCGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTA CCCTCGCGAGGCCAAAGTGCAGTGGAAAG TGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCC CAGGAATCCGTCACCGAGCAGGACTCCAA GGACAGCACCTACTCCCTGTCCTCCACCCT GACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGC ACAAAGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACC AGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCC TTCAACCGGGGCGAGTGC

SRF370-D		
SEQ ID NO: 73	CADEIA PESADA	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGG

		TFSTYAIGWVRQAPGQGLEWMGGIIPAF GTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELS SLRSEDTAVYYCARDPVRRSPFDIWGQG TMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTK TYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP SCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
SEQ ID NO: 74	CADEIA PESADA DE DNA	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGC TGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCGGT GAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGG CACCTTCAGCACGTATGCTATCGGGTG GGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGC TTGAGTGGATGGGAGGGATCATCCCTG CGTTTGGTACAGCAAACTACGCACAGA AGTTCCAGGGCAGAGTCACGATTACCG CGGACGAATCCACGAGCACAGCCTACA TGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGG ACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAG ATCCGGTGAGAAGAAGCCCATTCGACA TATGGGGTCAGGGTACAATGGTCACCG TCTCCTCAGCTTCCACCAAGGGCCCCT CCGTGTTCCCTCTGGCCCCTTGCTCCC GGTCCACCTCCGAGTCTACCGCCGCTC TGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTCC CCGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACT CTGGCGCCCTGACCTCCGGCGTGCAC ACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTCCTCC GGCCTGTACTCCCTGTCCAGCGTCGTG

		ACCGTGCCCTCCTCCAGCCTGGGCACC AAGACCTACACCTGTAACGTGGACCAC AAGCCCTCCAACACCAAAGTGGACAAG CGGGTGGAATCTAAGTACGGCCCTCCC TGCCCTTCCTGCCCTGCCCCTGAGTTC CTGGGCGGACCTTCCGTGTTCCTGTTC CCTCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATG ATCTCCCGGACCCCTGAAGTGACCTGC GTGGTGGTGGACGTGTCCCAGGAAGAT CCCGAAGTCCAGTTCAATTGGTACGTG GACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAA GACCAAGCCCAGAGAGGAACAGTTCAA CTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCT GACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAA CGGCAAAGAGTACAAGTGCAAAGTGTC CAACAAGGGCCTGCCCTCCAGCATCGA AAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCA GCCCCGCGAGCCCCAAGTGTACACCCT GCCTCCCAGCCAGGAAGAGATGACCAA GAATCAAGTGTCCCTGACTTGTCTGGT CAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGC CGTGGAGTGGGAGTCCAACGGCCAGC CCGAGAACAACTACAAGACCACCCCTC CCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCT TCCTGTACTCTCGGCTGACCGTGGACA AGTCCCGGTGGCAGGAAGGCAACGTCT TCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCC TGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCC TGTCCCTGTCTCTGGGC

SRF370-A		
SEQ ID NO: 75	CADEIA PESADA	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGG TFSTYAIGWVRQAPGQGLEWMGGIIPAF GTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELS SLRSEDTAVYYCARDPVRRSPFDIWGQG TMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTK TYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP PCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
SEQ ID NO: 76	CADEIA PESADA DE DNA	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGC TGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCGGT GAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGG CACCTTCAGCACGTATGCTATCGGGTG GGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGC TTGAGTGGATGGGAGGGATCATCCCTG CGTTTGGTACAGCAAACTACGCACAGA AGTTCCAGGGCAGAGTCACGATTACCG CGGACGAATCCACGAGCACAGCCTACA TGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGG ACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAG ATCCGGTGAGAAGAAGCCCATTCGACA TATGGGGTCAGGGTACAATGGTCACCG TCTCCTCAGCTTCCACCAAGGGCCCCT CCGTGTTCCCTCTGGCCCCTTGCTCCC GGTCCACCTCCGAGTCTACCGCCGCTC TGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTCC CCGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACT CTGGCGCCCTGACCTCCGGCGTGCAC

		ACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTCCTCC GGCCTGTACTCCCTGTCCAGCGTCGTG ACCGTGCCCTCCTCCAGCCTGGGCACC AAGACCTACACCTGTAACGTGGACCAC AAGCCCTCCAACACCAAAGTGGACAAG CGGGTGGAATCTAAGTACGGCCCTCCC TGCCCTCCTTGCCCTGCCCCTGAGTTC CTGGGCGGACCTTCCGTGTTCCTGTTC CCTCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATG ATCTCCCGGACCCCTGAAGTGACCTGC GTGGTGGTGGACGTGTCCCAGGAAGAT CCCGAAGTCCAGTTCAATTGGTACGTG GACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAA GACCAAGCCCAGAGAGGAACAGTTCAA CTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCT GACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAA CGGCAAAGAGTACAAGTGCAAAGTGTC CAACAAGGGCCTGCCCTCCAGCATCGA AAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCA GCCCCGCGAGCCCCAAGTGTACACCCT GCCTCCCAGCCAGGAAGAGATGACCAA GAATCAAGTGTCCCTGACTTGTCTGGT CAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGC CGTGGAGTGGGAGTCCAACGGCCAGC CCGAGAACAACTACAAGACCACCCCTC CCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCT TCCTGTACTCTCGGCTGACCGTGGACA AGTCCCGGTGGCAGGAAGGCAACGTCT TCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCC TGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCC TGTCCCTGTCTCTGGGC

SRF370-B		
SEQ ID NO: 77	CADEIA PESADA	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGG TFSTYAIGWVRQAPGQGLEWMGGIIPAF GTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELS SLRSEDTAVYYCARDPVRRSPFDIWGQG TMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTK TYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP PCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
SEQ ID NO: 78	CADEIA PESADA DE DNA	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGC TGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCGGT GAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGG CACCTTCAGCACGTATGCTATCGGGTG GGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGC TTGAGTGGATGGGAGGGATCATCCCTG CGTTTGGTACAGCAAACTACGCACAGA AGTTCCAGGGCAGAGTCACGATTACCG CGGACGAATCCACGAGCACAGCCTACA TGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGG ACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAG ATCCGGTGAGAAGAAGCCCATTCGACA TATGGGGTCAGGGTACAATGGTCACCG TCTCCTCAGCTTCCACCAAGGGCCCCT CCGTGTTCCCTCTGGCCCCTTGCTCCC GGTCCACCTCCGAGTCTACCGCCGCTC TGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTCC CCGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACT CTGGCGCCCTGACCTCCGGCGTGCAC

		ACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTCCTCC GGCCTGTACTCCCTGTCCAGCGTCGTG ACCGTGCCCTCCTCCAGCCTGGGCACC AAGACCTACACCTGTAACGTGGACCAC AAGCCCTCCAACACCAAAGTGGACAAG CGGGTGGAATCTAAGTACGGCCCTCCC TGCCCTCCTTGCCCTGCCCCTGAGTTC GAGGGCGGACCTTCCGTGTTCCTGTTC CCTCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATG ATCTCCCGGACCCCTGAAGTGACCTGC GTGGTGGTGGACGTGTCCCAGGAAGAT CCCGAAGTCCAGTTCAATTGGTACGTG GACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAA GACCAAGCCCAGAGAGGAACAGTTCAA CTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCT GACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAA CGGCAAAGAGTACAAGTGCAAAGTGTC CAACAAGGGCCTGCCCTCCAGCATCGA AAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCA GCCCCGCGAGCCCCAAGTGTACACCCT GCCTCCCAGCCAGGAAGAGATGACCAA GAATCAAGTGTCCCTGACTTGTCTGGT CAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGC CGTGGAGTGGGAGTCCAACGGCCAGC CCGAGAACAACTACAAGACCACCCCTC CCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCT TCCTGTACTCTCGGCTGACCGTGGACA AGTCCCGGTGGCAGGAAGGCAACGTCT TCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCC TGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCC TGTCCCTGTCTCTGGGC

SRF360-C		
SEQ ID NO: 79	HCDR1 (IMGT)	GFTFSSYR
SEQ ID NO: 80	HCDR2 (IMGT)	ISSSSSSI
SEQ ID NO: 81	HCDR3 (IMGT)	AKGPRYDSSGYRWRYGMDV
SEQ ID NO: 82	HCDR1 (NT)	FTFSSYRMN
SEQ ID NO: 83	HCDR2 (NT)	SISSSSSSIWYADSVKG
SEQ ID NO: 84	HCDR3 (NT)	AKGPRYDSSGYRWRYGMDV
SEQ ID NO: 85	VH	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFT FSSYRMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSS SSIWYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCAKGPRYDSSGYRWRY GMDVWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 86	DNA VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGG AGGCCTGGTCAAGCCTGGGGGGTCCC TGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAT TCACCTTCTCTAGCTATAGGATGAACTG GGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGC TGGAGTGGGTCTCATCCATTAGTAGTA GTAGTAGTTCGATATGGTACGCAGACT CAGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCACTGTATC TGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG ACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAAGG GCCCCAGATACGACAGCAGCGGATACC GATGGAGATACGGAATGGACGTATGGG GCCAGGGAACAACTGTCACCGTCTCCT CA
SEQ ID NO: 87	CADEIA PESADA	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFT FSSYRMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSS SSIWYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCAKGPRYDSSGYRWRY GMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK

		VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
SEQ ID NO: 88	CADEIA PESADA DE DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGG AGGCCTGGTCAAGCCTGGGGGGTCCC TGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAT TCACCTTCTCTAGCTATAGGATGAACTG GGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGC TGGAGTGGGTCTCATCCATTAGTAGTA GTAGTAGTTCGATATGGTACGCAGACT CAGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCACTGTATC TGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG ACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAAGG GCCCCAGATACGACAGCAGCGGATACC GATGGAGATACGGAATGGACGTATGGG GCCAGGGAACAACTGTCACCGTCTCCT CAGCGAGCACCAAAGGCCCGAGCGTG TTTCCGCTGGCGCCGAGCAGCAAAAGC ACCAGCGGCGGCACCGCGGCGCTGGG CTGCCTGGTGAAAGATTATTTTCCGGAA CCGGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGG CGCGCTGACCAGCGGCGTGCATACCTT TCCGGCGGTGCTGCAGAGCAGCGGCC TGTATAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCG TGCCGAGCAGCAGCCTGGGCACCCAG ACCTATATTTGCAACGTGAACCATAAAC CGAGCAACACCAAAGTGGATAAAAAAG TGGAACCGAAAAGCTGCGATAAAACCC ATACCTGCCCGCCGTGCCCGGCGCCG

		GAACTGCTGGGCGGCCCGAGCGTGTTT CTGTTTCCGCCGAAACCGAAAGATACC CTGATGATTAGCCGCACCCCGGAAGTG ACCTGCGTGGTGGTGGATGTGAGCCAT GAAGATCCGGAAGTGAAATTTAACTGG TATGTGGATGGCGTGGAAGTGCATAAC GCGAAAACCAAACCGCGCGAAGAACAG TATAACAGCACCTATCGCGTGGTGAGC GTGCTGACCGTGCTGCATCAGGATTGG CTGAACGGCAAAGAATATAAATGCAAA GTGAGCAACAAAGCGCTGCCGGCGCC GATTGAAAAAACCATTAGCAAAGCGAAA GGCCAGCCGCGCGAACCGCAGGTGTA TACCCTGCCGCCGAGCCGCGATGAACT GACCAAAAACCAGGTGAGCCTGACCTG CCTGGTGAAAGGCTTTTATCCGAGCGA TATTGCGGTGGAATGGGAAAGCAACGG CCAGCCGGAAAACAACTATAAAACCAC CCCGCCGGTGCTGGATAGCGATGGCA GCTTTTTTCTGTATAGCAAACTGACCGT GGATAAAAGCCGCTGGCAGCAGGGCA ACGTGTTTAGCTGCAGCGTGATGCATG AAGCGCTGCATAACCATTATACCCAGAA AAGCCTGAGCCTGAGCCCGGGCAAA
SEQ ID NO: 89	LCDR1 (IMGT)	QSISSY
SEQ ID NO: 90	LCDR2 (IMGT)	AAS
SEQ ID NO: 91	LCDR3 (IMGT)	QQLYVDPPWT
SEQ ID NO: 92	LCDR1 (NT)	RASQSISSYLN
SEQ ID NO: 93	LCDR2 (NT)	AASSLQS
SEQ ID NO: 94	LCDR3 (NT)	QQLYVDPPWT
SEQ ID NO: 95	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI SSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQLYVDPPWTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 96	DNA VL	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCC CTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC

		ATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGC AGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAG GGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTG CATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAA GGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATT TCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTG AAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAGCAACT ATACGTCGACCCTCCTTGGACTTTTGGCGG AGGGACCAAGGTTGAGATCAAA
SEQ ID NO: 97	CADEIA LEVE	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSY LNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQLYVDP PWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 98	CADEIA LEVE DE DNA	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCC CTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC ATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGC AGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAG GGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTG CATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAA GGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATT TCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTG AAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAGCAACT ATACGTCGACCCTCCTTGGACTTTTGGCGG AGGGACCAAGGTTGAGATCAAACGTACGGT GGCCGCTCCCTCCGTGTTCATCTTCCCACC CTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCG CCTCCGTCGTGTGCCTGCTGAACAACTTCT ACCCTCGCGAGGCCAAAGTGCAGTGGAAA GTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTC CCAGGAATCCGTCACCGAGCAGGACTCCAA GGACAGCACCTACTCCCTGTCCTCCACCCT GACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGC ACAAAGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACC AGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCC TTCAACCGGGGCGAGTGC

SRF360-D		
SEQ ID NO: 99	CADEIA PESADA	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFT FSSYRMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSS SSIWYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCAKGPRYDSSGYRWRY GMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDK RVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL PSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLG
SEQ ID NO: 100	CADEIA PESADA DE DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGG AGGCCTGGTCAAGCCTGGGGGGTCCC TGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAT TCACCTTCTCTAGCTATAGGATGAACTG GGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGC TGGAGTGGGTCTCATCCATTAGTAGTA GTAGTAGTTCGATATGGTACGCAGACT CAGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCACTGTATC TGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG ACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAAGG GCCCCAGATACGACAGCAGCGGATACC GATGGAGATACGGAATGGACGTATGGG GCCAGGGAACAACTGTCACCGTCTCCT CAGCTTCCACCAAGGGCCCCTCCGTGT TCCCTCTGGCCCCTTGCTCCCGGTCCA CCTCCGAGTCTACCGCCGCTCTGGGCT GCCTCGTGAAGGACTACTTCCCCGAGC

		CCGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCG CCCTGACCTCCGGCGTGCACACCTTCC CTGCCGTGCTGCAGTCCTCCGGCCTGT ACTCCCTGTCCAGCGTCGTGACCGTGC CCTCCTCCAGCCTGGGCACCAAGACCT ACACCTGTAACGTGGACCACAAGCCCT CCAACACCAAAGTGGACAAGCGGGTGG AATCTAAGTACGGCCCTCCCTGCCCTT CCTGCCCTGCCCCTGAGTTCCTGGGCG GACCTTCCGTGTTCCTGTTCCCTCCAAA GCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCG GACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGT GGACGTGTCCCAGGAAGATCCCGAAGT CCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGT GGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCC CAGAGAGGAACAGTTCAACTCCACCTA CCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCT GCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGA GTACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGG CCTGCCCTCCAGCATCGAAAAGACCAT CTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCG AGCCCCAAGTGTACACCCTGCCTCCCA GCCAGGAAGAGATGACCAAGAATCAAG TGTCCCTGACTTGTCTGGTCAAGGGCT TCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAGT GGGAGTCCAACGGCCAGCCCGAGAAC AACTACAAGACCACCCCTCCCGTGCTG GACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTGTAC TCTCGGCTGACCGTGGACAAGTCCCGG TGGCAGGAAGGCAACGTCTTCTCCTGC TCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAAC CACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTG TCTCTGGGC

SRF360-A		
SEQ ID NO: 101	CADEIA PESADA	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFT FSSYRMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSS SSIWYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCAKGPRYDSSGYRWRY GMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDK RVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL PSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLG
SEQ ID NO: 102	CADEIA PESADA DE DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGG AGGCCTGGTCAAGCCTGGGGGGTCCC TGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAT TCACCTTCTCTAGCTATAGGATGAACTG GGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGC TGGAGTGGGTCTCATCCATTAGTAGTA GTAGTAGTTCGATATGGTACGCAGACT CAGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCACTGTATC TGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG ACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAAGG GCCCCAGATACGACAGCAGCGGATACC GATGGAGATACGGAATGGACGTATGGG GCCAGGGAACAACTGTCACCGTCTCCT CAGCTTCCACCAAGGGCCCCTCCGTGT TCCCTCTGGCCCCTTGCTCCCGGTCCA CCTCCGAGTCTACCGCCGCTCTGGGCT GCCTCGTGAAGGACTACTTCCCCGAGC

		CCGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCG CCCTGACCTCCGGCGTGCACACCTTCC CTGCCGTGCTGCAGTCCTCCGGCCTGT ACTCCCTGTCCAGCGTCGTGACCGTGC CCTCCTCCAGCCTGGGCACCAAGACCT ACACCTGTAACGTGGACCACAAGCCCT CCAACACCAAAGTGGACAAGCGGGTGG AATCTAAGTACGGCCCTCCCTGCCCTC CTTGCCCTGCCCCTGAGTTCCTGGGCG GACCTTCCGTGTTCCTGTTCCCTCCAAA GCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCG GACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGT GGACGTGTCCCAGGAAGATCCCGAAGT CCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGT GGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCC CAGAGAGGAACAGTTCAACTCCACCTA CCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCT GCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGA GTACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGG CCTGCCCTCCAGCATCGAAAAGACCAT CTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCG AGCCCCAAGTGTACACCCTGCCTCCCA GCCAGGAAGAGATGACCAAGAATCAAG TGTCCCTGACTTGTCTGGTCAAGGGCT TCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAGT GGGAGTCCAACGGCCAGCCCGAGAAC AACTACAAGACCACCCCTCCCGTGCTG GACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTGTAC TCTCGGCTGACCGTGGACAAGTCCCGG TGGCAGGAAGGCAACGTCTTCTCCTGC TCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAAC CACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTG TCTCTGGGC

SRF360-B		
SEQ ID NO: 103	CADEIA PESADA	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFT FSSYRMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSS SSIWYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCAKGPRYDSSGYRWRY GMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDK RVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL PSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLG
SEQ ID NO: 104	CADEIA PESADA DE DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGG AGGCCTGGTCAAGCCTGGGGGGTCCC TGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAT TCACCTTCTCTAGCTATAGGATGAACTG GGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGC TGGAGTGGGTCTCATCCATTAGTAGTA GTAGTAGTTCGATATGGTACGCAGACT CAGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCACTGTATC TGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG ACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAAGG GCCCCAGATACGACAGCAGCGGATACC GATGGAGATACGGAATGGACGTATGGG GCCAGGGAACAACTGTCACCGTCTCCT CAGCTTCCACCAAGGGCCCCTCCGTGT TCCCTCTGGCCCCTTGCTCCCGGTCCA CCTCCGAGTCTACCGCCGCTCTGGGCT GCCTCGTGAAGGACTACTTCCCCGAGC

		CCGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCG CCCTGACCTCCGGCGTGCACACCTTCC CTGCCGTGCTGCAGTCCTCCGGCCTGT ACTCCCTGTCCAGCGTCGTGACCGTGC CCTCCTCCAGCCTGGGCACCAAGACCT ACACCTGTAACGTGGACCACAAGCCCT CCAACACCAAAGTGGACAAGCGGGTGG AATCTAAGTACGGCCCTCCCTGCCCTC CTTGCCCTGCCCCTGAGTTCGAGGGCG GACCTTCCGTGTTCCTGTTCCCTCCAAA GCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCG GACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGT GGACGTGTCCCAGGAAGATCCCGAAGT CCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGT GGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCC CAGAGAGGAACAGTTCAACTCCACCTA CCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCT GCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGA GTACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGG CCTGCCCTCCAGCATCGAAAAGACCAT CTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCG AGCCCCAAGTGTACACCCTGCCTCCCA GCCAGGAAGAGATGACCAAGAATCAAG TGTCCCTGACTTGTCTGGTCAAGGGCT TCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAGT GGGAGTCCAACGGCCAGCCCGAGAAC AACTACAAGACCACCCCTCCCGTGCTG GACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTGTAC TCTCGGCTGACCGTGGACAAGTCCCGG TGGCAGGAAGGCAACGTCTTCTCCTGC TCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAAC CACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTG TCTCTGGGC

SRF399-C		
SEQ ID NO: 105	HCDR1 (IMGT)	GYTFSSWY
SEQ ID NO: 106	HCDR2 (IMGT)	INPSGGST
SEQ ID NO: 107	HCDR3 (IMGT)	ARDAPFYTWDHYYGMD
SEQ ID NO:108	HCDR1 (NT)	YTFSSWYMH
SEQ ID NO: 109	HCDR2 (NT)	MINPSGGSTKYAQKFQG
SEQ ID NO: 110	HCDR3 (NT)	ARDAPFYTWDHYYGMDV
SEQ ID NO: 111	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYT FSSWYMHWVRQAPGQGLEWMGMINPS GGSTKYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYM ELSSLRSEDTAVYYCARDAPFYTWDHYY GMDVWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 112	DNA VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGC TGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGT GAAGGTTTCCTGCAAGGCATCTGGATA CACCTTCAGTAGCTGGTATATGCACTG GGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGC TTGAGTGGATGGGAATGATCAACCCTA GTGGTGGTAGCACAAAGTACGCACAGA AGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCA GGGACACGTCCACGAGCACAGTCTACA TGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGG ACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAG ATGCTCCTTTCTACACCTGGGATCACTA CTACGGAATGGACGTATGGGGCCAGG GAACAACTGTCACCGTCTCCTCA
SEQ ID NO: 113	CADEIA PESADA	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYT FSSWYMHWVRQAPGQGLEWMGMINPS GGSTKYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYM ELSSLRSEDTAVYYCARDAPFYTWDHYY GMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF

		PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
SEQ ID NO: 114	CADEIA PESADA DE DNA	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGC TGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGT GAAGGTTTCCTGCAAGGCATCTGGATA CACCTTCAGTAGCTGGTATATGCACTG GGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGC TTGAGTGGATGGGAATGATCAACCCTA GTGGTGGTAGCACAAAGTACGCACAGA AGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCA GGGACACGTCCACGAGCACAGTCTACA TGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGG ACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAG ATGCTCCTTTCTACACCTGGGATCACTA CTACGGAATGGACGTATGGGGCCAGG GAACAACTGTCACCGTCTCCTCAGCGA GCACCAAAGGCCCGAGCGTGTTTCCGC TGGCGCCGAGCAGCAAAAGCACCAGC GGCGGCACCGCGGCGCTGGGCTGCCT GGTGAAAGATTATTTTCCGGAACCGGT GACCGTGAGCTGGAACAGCGGCGCGC TGACCAGCGGCGTGCATACCTTTCCGG CGGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTATA GCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCG AGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTAT ATTTGCAACGTGAACCATAAACCGAGC AACACCAAAGTGGATAAAAAAGTGGAA CCGAAAAGCTGCGATAAAACCCATACC TGCCCGCCGTGCCCGGCGCCGGAACT GCTGGGCGGCCCGAGCGTGTTTCTGTT

		TCCGCCGAAACCGAAAGATACCCTGAT GATTAGCCGCACCCCGGAAGTGACCTG CGTGGTGGTGGATGTGAGCCATGAAGA TCCGGAAGTGAAATTTAACTGGTATGTG GATGGCGTGGAAGTGCATAACGCGAAA ACCAAACCGCGCGAAGAACAGTATAAC AGCACCTATCGCGTGGTGAGCGTGCTG ACCGTGCTGCATCAGGATTGGCTGAAC GGCAAAGAATATAAATGCAAAGTGAGC AACAAAGCGCTGCCGGCGCCGATTGAA AAAACCATTAGCAAAGCGAAAGGCCAG CCGCGCGAACCGCAGGTGTATACCCTG CCGCCGAGCCGCGATGAACTGACCAAA AACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTG AAAGGCTTTTATCCGAGCGATATTGCG GTGGAATGGGAAAGCAACGGCCAGCC GGAAAACAACTATAAAACCACCCCGCC GGTGCTGGATAGCGATGGCAGCTTTTT TCTGTATAGCAAACTGACCGTGGATAAA AGCCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTT AGCTGCAGCGTGATGCATGAAGCGCTG CATAACCATTATACCCAGAAAAGCCTGA GCCTGAGCCCGGGCAAA
SEQ ID NO: 115	LCDR1 (IMGT)	QDISNY
SEQ ID NO: 116	LCDR2 (IMGT)	DAS
SEQ ID NO: 117	LCDR3 (IMGT)	QQLYHLPIT
SEQ ID NO: 118	LCDR1 (NT)	QASQDISNYLN
SEQ ID NO: 119	LCDR2 (NT)	DASNLAT
SEQ ID NO: 120	LCDR3 (NT)	QQLYHLPIT
SEQ ID NO: 121	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDI SNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLATG VPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATY YCQQLYHLPITFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 122	DNA VL	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCC CTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC ATCACTTGCCAGGCGAGTCAGGACATTAGC

		AACTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAG GGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTACGATG CATCCAATTTGGCAACAGGGGTCCCATCAA GGTTCAGTGGAAGTGGATCTGGGACAGATT TTACTTTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTG AAGATATTGCAACATATTACTGTCAGCAGCT CTACCACCTCCCTATCACTTTTGGCGGAGG GACCAAGGTTGAGATCAAA
SEQ ID NO: 123	CADEIA LEVE	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNY LNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLATGVPSRFS GSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQLYHLPI TFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 124	CADEIA LEVE DE DNA	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCC CTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC ATCACTTGCCAGGCGAGTCAGGACATTAGC AACTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAG GGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTACGATG CATCCAATTTGGCAACAGGGGTCCCATCAA GGTTCAGTGGAAGTGGATCTGGGACAGATT TTACTTTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTG AAGATATTGCAACATATTACTGTCAGCAGCT CTACCACCTCCCTATCACTTTTGGCGGAGG GACCAAGGTTGAGATCAAACGTACGGTGGC CGCTCCCTCCGTGTTCATCTTCCCACCCTC CGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCT CCGTCGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACC CTCGCGAGGCCAAAGTGCAGTGGAAAGTG GACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCA GGAATCCGTCACCGAGCAGGACTCCAAGG ACAGCACCTACTCCCTGTCCTCCACCCTGA CCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACA AAGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAG GGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTTC AACCGGGGCGAGTGC

SRF399-D		
SEQ ID NO: 125	CADEIA PESADA	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYT FSSWYMHWVRQAPGQGLEWMGMINPS GGSTKYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYM ELSSLRSEDTAVYYCARDAPFYTWDHYY GMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDK RVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL PSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLG
SEQ ID NO: 126	CADEIA PESADA DE DNA	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGC TGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGT GAAGGTTTCCTGCAAGGCATCTGGATA CACCTTCAGTAGCTGGTATATGCACTG GGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGC TTGAGTGGATGGGAATGATCAACCCTA GTGGTGGTAGCACAAAGTACGCACAGA AGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCA GGGACACGTCCACGAGCACAGTCTACA TGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGG ACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAG ATGCTCCTTTCTACACCTGGGATCACTA CTACGGAATGGACGTATGGGGCCAGG GAACAACTGTCACCGTCTCCTCAGCTT CCACCAAGGGCCCCTCCGTGTTCCCTC TGGCCCCTTGCTCCCGGTCCACCTCCG AGTCTACCGCCGCTCTGGGCTGCCTCG TGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGA

		CCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCCCTGA CCTCCGGCGTGCACACCTTCCCTGCCG TGCTGCAGTCCTCCGGCCTGTACTCCC TGTCCAGCGTCGTGACCGTGCCCTCCT CCAGCCTGGGCACCAAGACCTACACCT GTAACGTGGACCACAAGCCCTCCAACA CCAAAGTGGACAAGCGGGTGGAATCTA AGTACGGCCCTCCCTGCCCTTCCTGCC CTGCCCCTGAGTTCCTGGGCGGACCTT CCGTGTTCCTGTTCCCTCCAAAGCCCA AGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCC CTGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACG TGTCCCAGGAAGATCCCGAAGTCCAGT TCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAG TGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAG AGGAACAGTTCAACTCCACCTACCGGG TGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACC AGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACA AGTGCAAAGTGTCCAACAAGGGCCTGC CCTCCAGCATCGAAAAGACCATCTCCA AGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAGCCC CAAGTGTACACCCTGCCTCCCAGCCAG GAAGAGATGACCAAGAATCAAGTGTCC CTGACTTGTCTGGTCAAGGGCTTCTAC CCCTCCGATATCGCCGTGGAGTGGGAG TCCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTAC AAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACTCC GACGGCTCCTTCTTCCTGTACTCTCGG CTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCA GGAAGGCAACGTCTTCTCCTGCTCCGT GATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTA CACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCTCT GGGC

SRF399-A		
SEQ ID NO: 127	CADEIA PESADA	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYT FSSWYMHWVRQAPGQGLEWMGMINPS GGSTKYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYM ELSSLRSEDTAVYYCARDAPFYTWDHYY GMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDK RVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL PSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLG
SEQ ID NO: 128	CADEIA PESADA DE DNA	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGC TGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGT GAAGGTTTCCTGCAAGGCATCTGGATA CACCTTCAGTAGCTGGTATATGCACTG GGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGC TTGAGTGGATGGGAATGATCAACCCTA GTGGTGGTAGCACAAAGTACGCACAGA AGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCA GGGACACGTCCACGAGCACAGTCTACA TGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGG ACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAG ATGCTCCTTTCTACACCTGGGATCACTA CTACGGAATGGACGTATGGGGCCAGG GAACAACTGTCACCGTCTCCTCAGCTT CCACCAAGGGCCCCTCCGTGTTCCCTC TGGCCCCTTGCTCCCGGTCCACCTCCG AGTCTACCGCCGCTCTGGGCTGCCTCG TGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGA

		CCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCCCTGA CCTCCGGCGTGCACACCTTCCCTGCCG TGCTGCAGTCCTCCGGCCTGTACTCCC TGTCCAGCGTCGTGACCGTGCCCTCCT CCAGCCTGGGCACCAAGACCTACACCT GTAACGTGGACCACAAGCCCTCCAACA CCAAAGTGGACAAGCGGGTGGAATCTA AGTACGGCCCTCCCTGCCCTCCTTGCC CTGCCCCTGAGTTCCTGGGCGGACCTT CCGTGTTCCTGTTCCCTCCAAAGCCCA AGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCC CTGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACG TGTCCCAGGAAGATCCCGAAGTCCAGT TCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAG TGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAG AGGAACAGTTCAACTCCACCTACCGGG TGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACC AGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACA AGTGCAAAGTGTCCAACAAGGGCCTGC CCTCCAGCATCGAAAAGACCATCTCCA AGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAGCCC CAAGTGTACACCCTGCCTCCCAGCCAG GAAGAGATGACCAAGAATCAAGTGTCC CTGACTTGTCTGGTCAAGGGCTTCTAC CCCTCCGATATCGCCGTGGAGTGGGAG TCCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTAC AAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACTCC GACGGCTCCTTCTTCCTGTACTCTCGG CTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCA GGAAGGCAACGTCTTCTCCTGCTCCGT GATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTA CACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCTCT GGGC

SRF399-B		
SEQ ID NO: 129	CADEIA PESADA	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYT FSSWYMHWVRQAPGQGLEWMGMINPS GGSTKYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYM ELSSLRSEDTAVYYCARDAPFYTWDHYY GMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDK RVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL PSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLG
SEQ ID NO: 130	CADEIA PESADA DE DNA	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGC TGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGT GAAGGTTTCCTGCAAGGCATCTGGATA CACCTTCAGTAGCTGGTATATGCACTG GGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGC TTGAGTGGATGGGAATGATCAACCCTA GTGGTGGTAGCACAAAGTACGCACAGA AGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCA GGGACACGTCCACGAGCACAGTCTACA TGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGG ACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAGAG ATGCTCCTTTCTACACCTGGGATCACTA CTACGGAATGGACGTATGGGGCCAGG GAACAACTGTCACCGTCTCCTCAGCTT CCACCAAGGGCCCCTCCGTGTTCCCTC TGGCCCCTTGCTCCCGGTCCACCTCCG AGTCTACCGCCGCTCTGGGCTGCCTCG TGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGA

		CCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCCCTGA CCTCCGGCGTGCACACCTTCCCTGCCG TGCTGCAGTCCTCCGGCCTGTACTCCC TGTCCAGCGTCGTGACCGTGCCCTCCT CCAGCCTGGGCACCAAGACCTACACCT GTAACGTGGACCACAAGCCCTCCAACA CCAAAGTGGACAAGCGGGTGGAATCTA AGTACGGCCCTCCCTGCCCTCCTTGCC CTGCCCCTGAGTTCGAGGGCGGACCTT CCGTGTTCCTGTTCCCTCCAAAGCCCA AGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCC CTGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACG TGTCCCAGGAAGATCCCGAAGTCCAGT TCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAG TGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAG AGGAACAGTTCAACTCCACCTACCGGG TGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACC AGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACA AGTGCAAAGTGTCCAACAAGGGCCTGC CCTCCAGCATCGAAAAGACCATCTCCA AGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAGCCC CAAGTGTACACCCTGCCTCCCAGCCAG GAAGAGATGACCAAGAATCAAGTGTCC CTGACTTGTCTGGTCAAGGGCTTCTAC CCCTCCGATATCGCCGTGGAGTGGGAG TCCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTAC AAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACTCC GACGGCTCCTTCTTCCTGTACTCTCGG CTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCA GGAAGGCAACGTCTTCTCCTGCTCCGT GATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTA CACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCTCT GGGC

SEQ ID NO: 131	Região Constante de IgG1 Humana	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 132	Região constante de IgG4 humana (terminal K ausente)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVD HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEF LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSLG-
SEQ ID NO: 133	Mutante único da região constante de IgG4 humana (S228P) (terminal K ausente)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVD HKPSNTKVDKRVESKYGPPCP**P**CPAPEF LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSLG-

SEQ ID NO: 134	Mutante duplo da região constante de IgG4 humana (S228P) (L235E) (terminal K ausente)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVD HKPSNTKVDKRVESKYGPPCP**P**CPAPEF **E**GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSLG-
SEQ ID NO: 135	FLAG	DYKDDDDK
SEQ ID NO: 136	poli-histidina (6-His)	HHHHHH
SEQ ID NO: 137	hemaglutinina (HA)	YPYDVPDYA
SEQ ID NO: 138	CD39 (Sequência de referência NCBI: NP_001767.3)	MEDTKESNVKTFCSKNILAILGFSSIIAVIA LLAVGLTQNKALPENVKYGIVLDAGSSHT SLYIYKWPAEKENDTGVVHQVEECRVKG PGISKFVQKVNEIGIYLTDCMERAREVIPR SQHQETPVYLGATAGMRLLRMESEELAD RVLDVVERSLSNYPFDFQGARIITGQEEG AYGWITINYLLGKFSQKTRWFSIVPYETN NQETFGALDLGGASTQVTFVPQNQTIES PDNALQFRLYGKDYNVYTHSFLCYGKDQ ALWQKLAKDIQVASNEILRDPCFHPGYKK VVNVSDLYKTPCTKRFEMTLPFQQFEIQG IGNYQQCHQSILELFNTSYCPYSQCAFNG IFLPPLQGDFGAFSAFYFVMKFLNLTSEK VSQEKVTEMMKKFCAQPWEEIKTSYAGV KEKYLSEYCFSGTYILSLLLQGYHFTADS WEHIHFIGKIQGSDAGWTLGYMLNLTNMI PAEQPLSTPLSHSTYVFLMVLFSLVLFTV AIIGLLIFHKPSYFWKDMV

REIVINDICAÇÕES

1. Uso de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo anti-CD39 isolado, caracterizado pelo fato de que é na preparação de uma composição farmacêutica, formulação, fármaco ou kit para o tratamento de câncer associado com a expressão de CD39 em um microambiente tumoral em um indivíduo, sendo que o anticorpo anti-CD39 isolado compreende:

i. (a) HCDR1 compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 27; (b) HCDR2 compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 28; (c) HCDR3 compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 29; (d) LCDR1 compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 37; (e) LCDR2 compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 38; e (f) LCDR3 compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 39; ou

ii. (a) HCDR1 compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 30; (b) HCDR2 compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 31; (c) HCDR3 compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 32; (d) LCDR1 compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 40; (e) LCDR2 compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 41; e (f) LCDR3 compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 42.

2. Uso de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o anticorpo anti-CD39 isolado compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) e uma região variável de cadeia leve (VL), em que a VH apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 33 e a VL apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 43.

3. Uso de acordo com a reivindicação 1, caracterizado

pelo fato de que o câncer é um tumor sólido.

4. Uso de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o câncer é selecionado de câncer de pulmão, câncer de pulmão de células não pequenas, câncer de ovário, câncer de rim, câncer de testículo, câncer de pâncreas, câncer de mama, câncer de mama triplo-negativo, melanoma, câncer de cabeça e pescoço, câncer de cabeça e pescoço escamoso, câncer colorretal, câncer de bexiga, câncer endometrial, câncer de próstata, câncer de tireoide, carcinoma hepatocelular, câncer gástrico, câncer no cérebro, linfoma e câncer renal.

5. Uso de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o câncer é câncer pancreático.

6. Uso de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o câncer é câncer gástrico.

7. Uso de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o câncer é câncer de próstata.

8. Uso de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o câncer é câncer endometrial.

9. Uso de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o câncer é câncer de células não pequenas.

10. Uso de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o câncer é câncer colorretal.

11. Uso de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o câncer é câncer de ovário.

12. Uso de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a composição farmacêutica, formulação, ou fármaco compreendendo o anticorpo anti-CD39 isolado é adequado para admininstração em combinação com um ou mais procedimentos ou agentes terapêuticos adicionais, em que o procedimento ou agente terapêutico adicional é selecionado de um agente quimioterapêutico,

uma terapia anticâncer direcionada, um fármaco oncolítico, um agente citotóxico, uma terapia imunológica, uma citocina, um procedimento cirúrgico, um procedimento de radiação, um ativador de uma molécula coestimulatória, um inibidor de molécula inibitória, uma vacina, e uma imunoterapia celular, ou uma combinação dos mesmos.

13. Uso, de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pelo fato de que os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são um antagonista de PD-1, um antagonista de adenosina A2AR, um inibidor de CD73, um inibidor de CTLA-4, um inibidor de TIM-3, um inibidor de LAG-3, terapia celular de receptor de antígeno quimérico (CAR), uma antraciclina, um agente quimioterapêutico ou uma combinação dos mesmos.

14. Uso de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pelo fato de que os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são um antagonista de PD-1.

15. Uso de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pelo fato de que os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são um inibidor de CD73.

16. Uso de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pelo fato de que os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são um antagonista de A2AR.

17. Uso de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pelo fato de que os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são um agente quimioterapêutico.

18. Uso de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pelo fato de que os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são um inibidor de CD73 e um antagonista de A2AR.

19. Uso de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pelo fato de que os um ou mais agentes terapêuticos adicionais são um antagonista de PD-1 e um antagonista de adenosina A2AR.

20. Uso de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo anti-CD39 isolado, caracterizado pelo fato de que é na preparação de uma composição farmacêutica, formulação, fármaco ou kit para o tratamento de câncer associado com a expressão de CD39 em um microambiente tumoral em um indivíduo, sendo que o anticorpo anti-CD39 isolado compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) e uma região variável de cadeia leve (VL), em que a VH compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 33 e a VL compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 43.

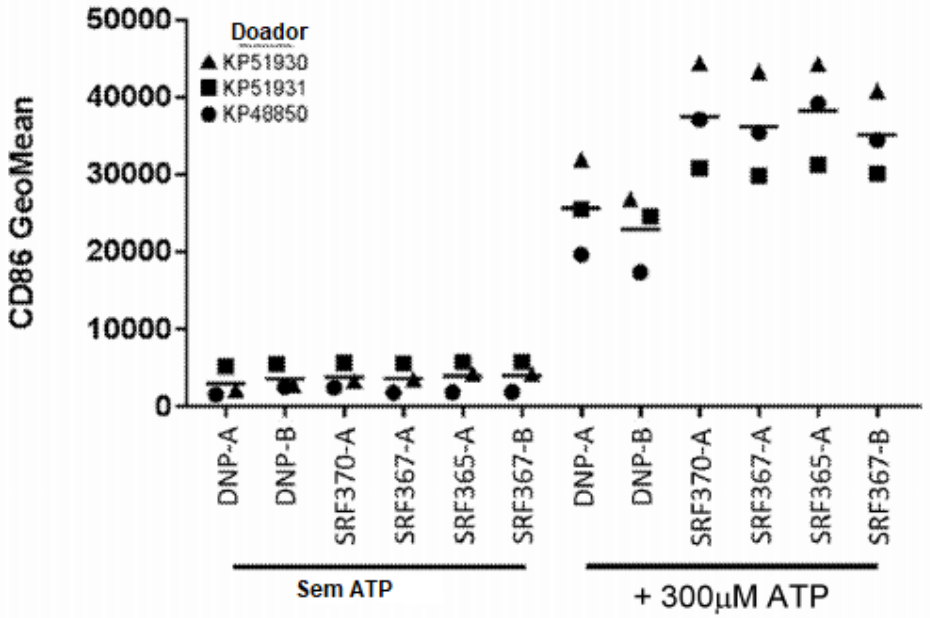

Doador
KP51930
KP51931
KP48850
CD86 GeoMean
50000
40000
30000
20000
10000
0
DNP-A
DNP-B
SRF370-A
SRF367-A
SRF365-A
SRF367-B
DNP-A
DNP-B
SRF370-A
SRF367-A
SRF365-A
SRF367-B
Sem ATP
+ 300µM ATP

Fig. 1A

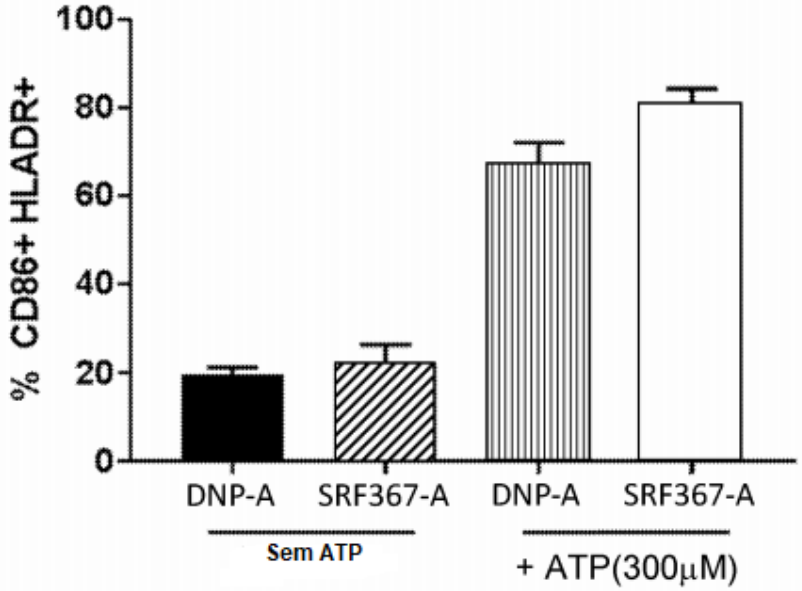

% CD86+ HLADR+
100
80
60
40
20
0
DNP-A
SRF367-A
DNP-A
SRF367-A
Sem ATP
+ ATP(300µM)

Fig. 1B

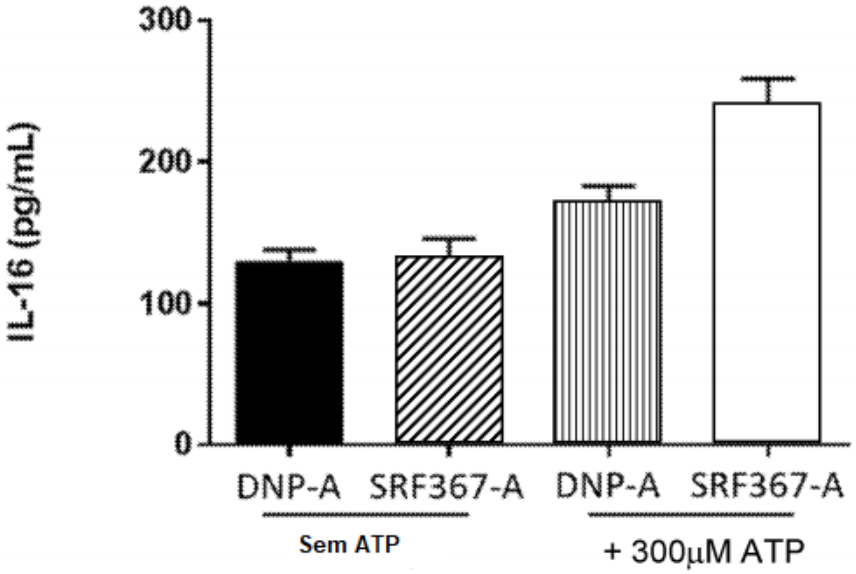

300
200
100
0
IL-16 (pg/mL)
DNP-A
SRF367-A
DNP-A
SRF367-A
Sem ATP
+ 300μM ATP

Fig. 1C

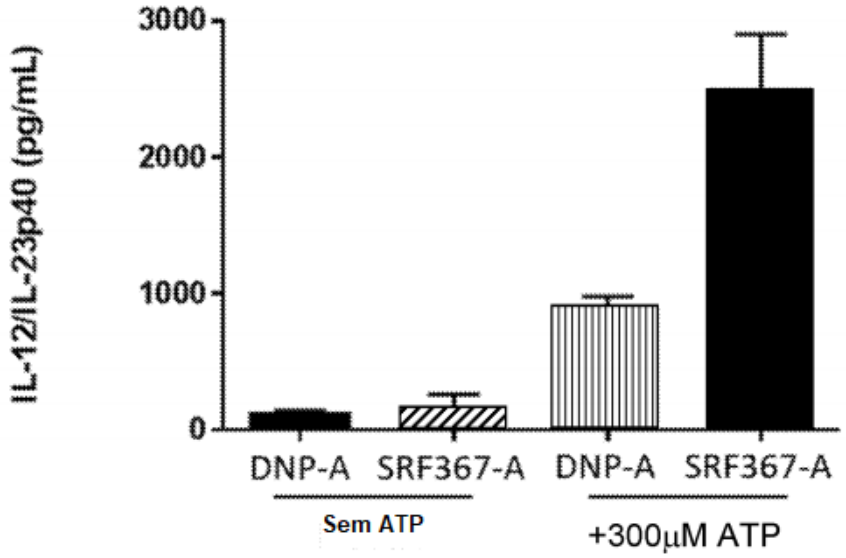

3000
2000
1000
0
IL-12/IL-23p40 (pg/mL)
DNP-A
SRF367-A
DNP-A
SRF367-A
Sem ATP
+300μM ATP

Fig. 1D

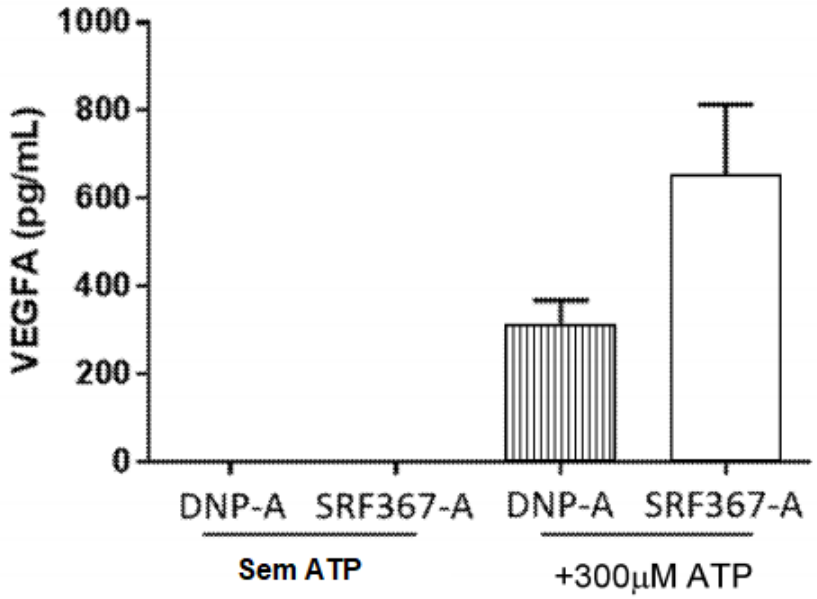

1000
800
600
400
200
0
VEGFA (pg/mL)
DNP-A
SRF367-A
DNP-A
SRF367-A
Sem ATP
+300μM ATP

Fig. 1E

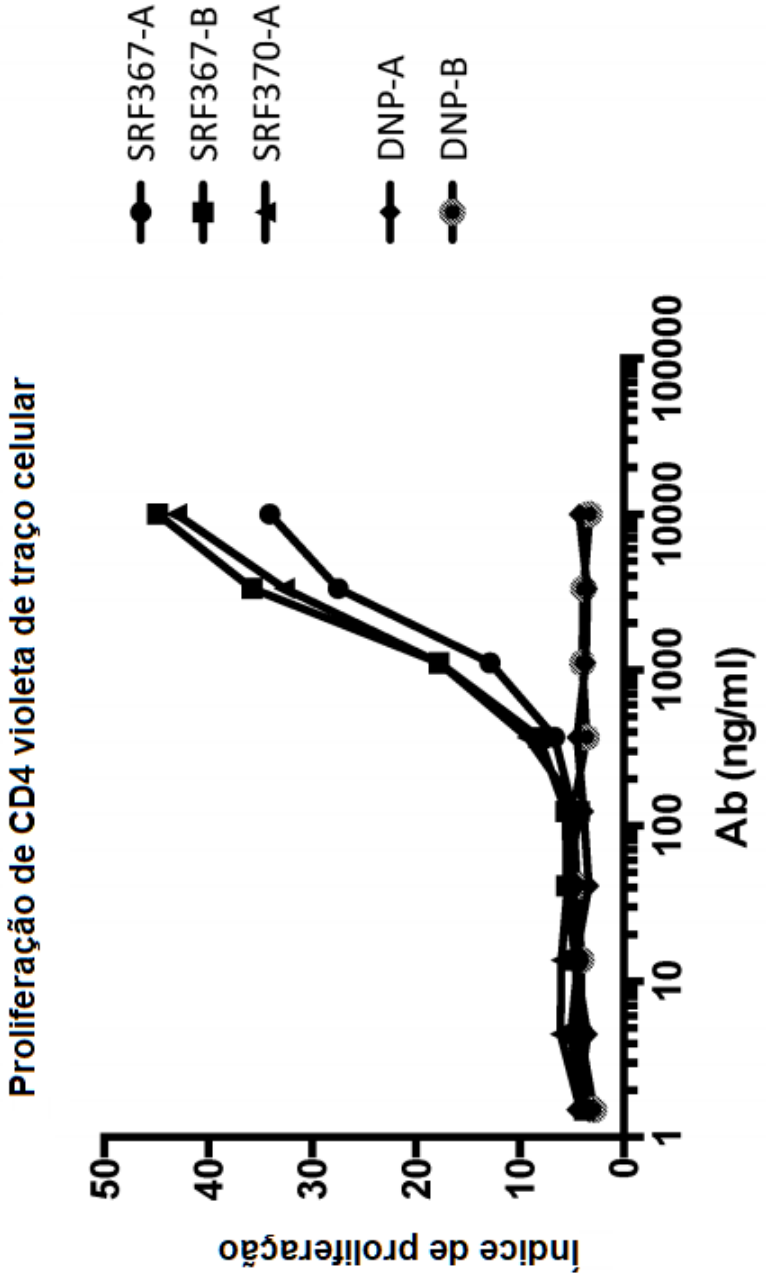

SRF367-A
SRF367-B
SRF370-A
DNP-A
DNP-B
Proliferação de CD4 violeta de traço celular
Índice de proliferação
0
10
20
30
40
50
1
10
100
1000
10000
100000
Ab (ng/ml)

Fig. 2

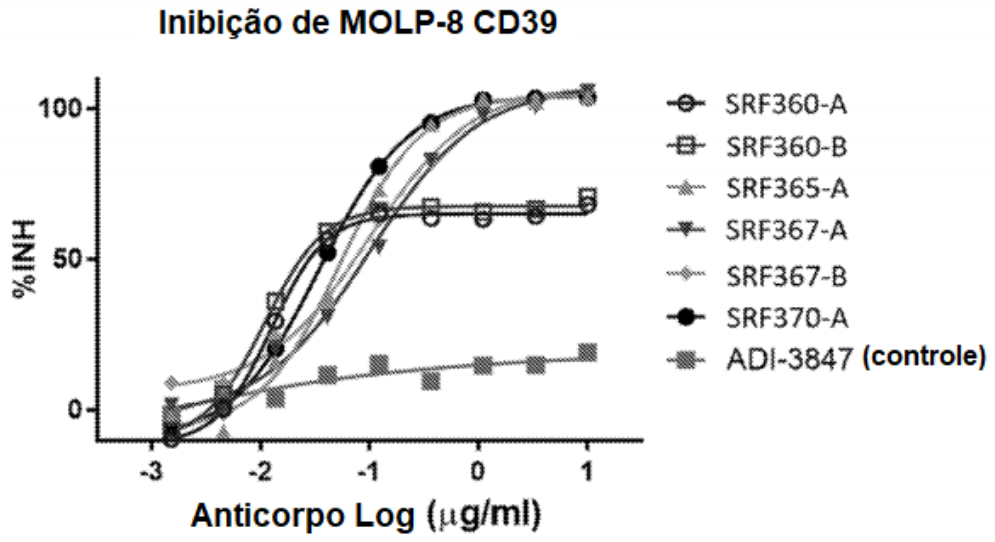

Inibição de MOLP-8 CD39
%INH
100
50
0
-3
-2
-1
0
1
Anticorpo Log (µg/ml)
SRF360-A
SRF360-B
SRF365-A
SRF367-A
SRF367-B
SRF370-A
ADI-3847 (controle)

Fig. 3A

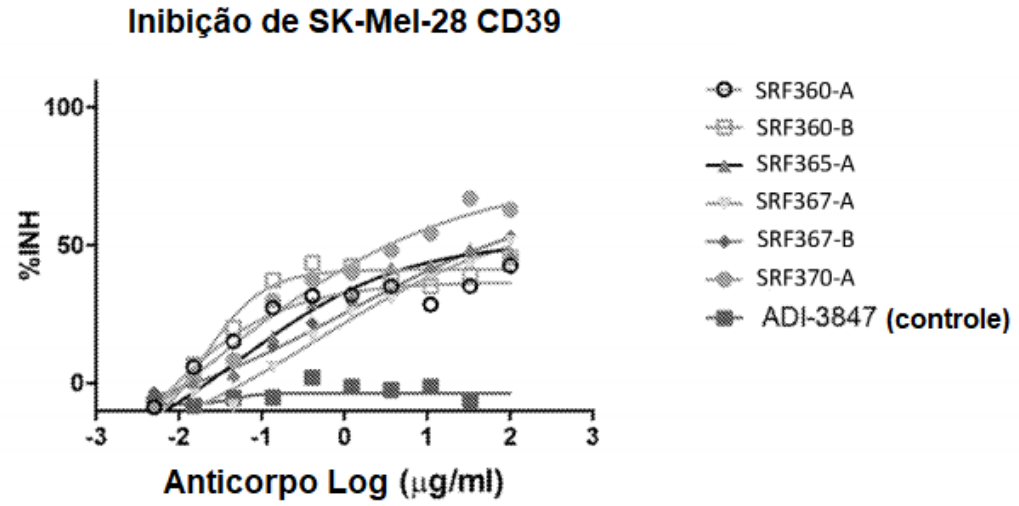

Inibição de SK-Mel-28 CD39
%INH
100
50
0
-3
-2
-1
0
1
2
3
Anticorpo Log (µg/ml)
SRF360-A
SRF360-B
SRF365-A
SRF367-A
SRF367-B
SRF370-A
ADI-3847 (controle)

Fig. 3B

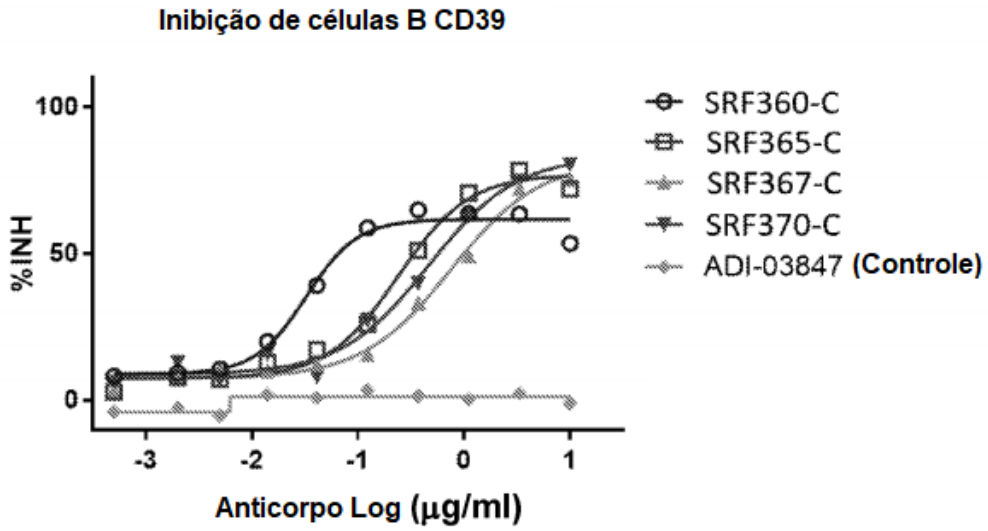

Inibição de células B CD39
100
50
0
%INH
-3
-2
-1
0
1
Anticorpo Log (µg/ml)
SRF360-C
SRF365-C
SRF367-C
SRF370-C
ADI-03847 (Controle)

Fig. 3C

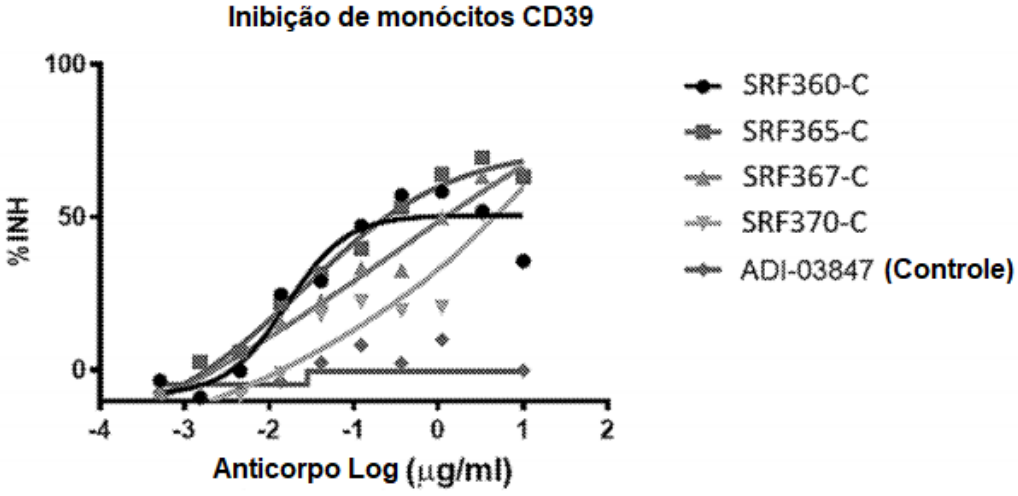

Inibição de monócitos CD39
100
50
0
%INH
-4
-3
-2
-1
0
1
2
Anticorpo Log (µg/ml)
SRF360-C
SRF365-C
SRF367-C
SRF370-C
ADI-03847 (Controle)

Fig. 3D

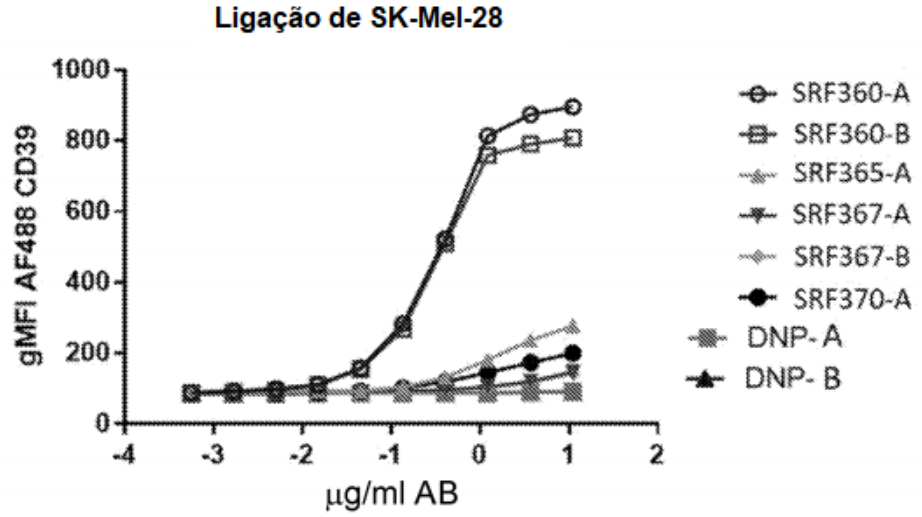

Ligação de SK-Mel-28
gMFI AF488 CD39
1000
800
600
400
200
0
-4
-3
-2
-1
0
1
2
µg/ml AB
SRF360-A
SRF360-B
SRF365-A
SRF367-A
SRF367-B
SRF370-A
DNP- A
DNP- B

Fig. 4A

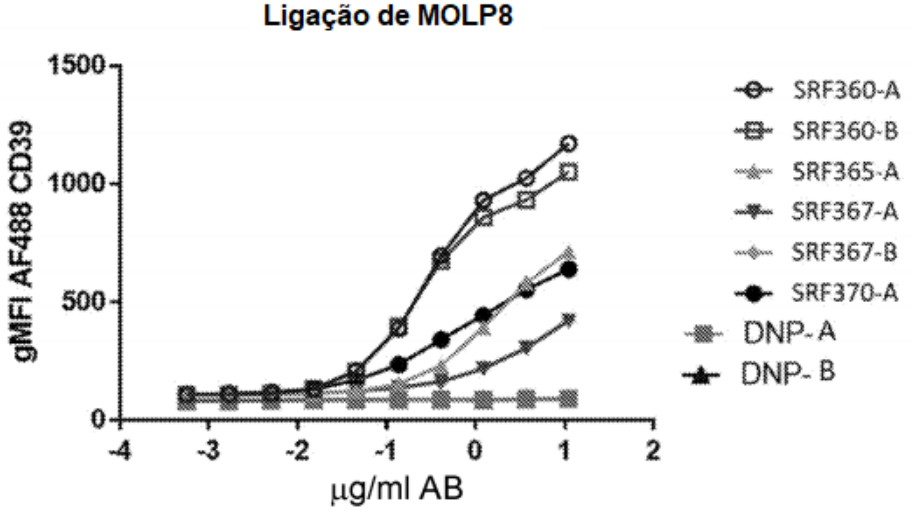

Ligação de MOLP8
gMFI AF488 CD39
1500
1000
500
0
-4
-3
-2
-1
0
1
2
µg/ml AB
SRF360-A
SRF360-B
SRF365-A
SRF367-A
SRF367-B
SRF370-A
DNP- A
DNP- B

Fig. 4B

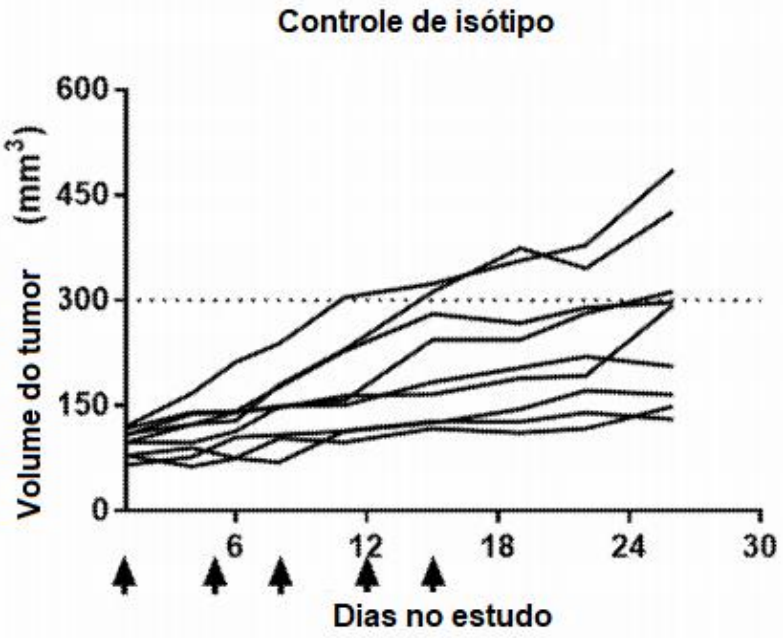

Controle de isótipo
600
450
300
150
0
Volume do tumor (mm3)
6
12
18
24
30
Dias no estudo

Fig. 5A

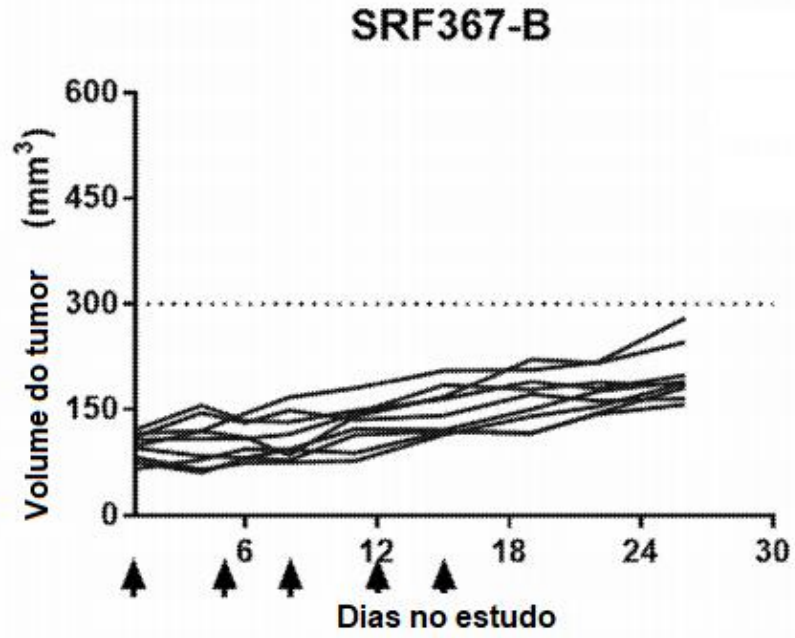

SRF367-B
600
450
300
150
0
Volume do tumor (mm3)
6
12
18
24
30
Dias no estudo

Fig. 5B

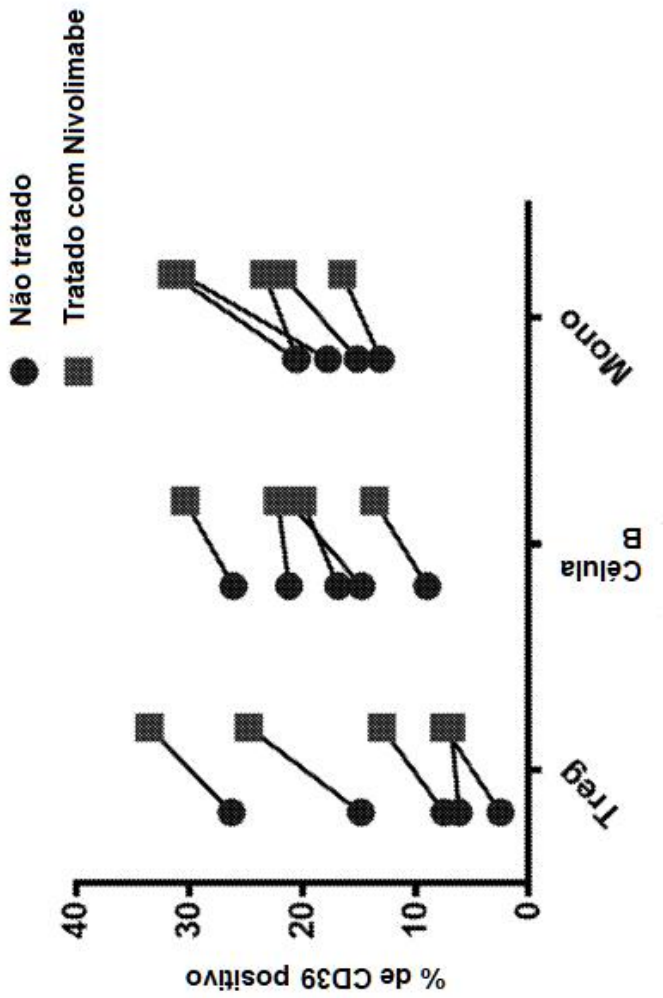

Não tratado
Tratado com Nivolimabe
% de CD39 positivo
0
10
20
30
40
Treg
Célula B
Mono
Tipo de célula

Fig. 6

Anticorpo	IgG K_D humana CD39-His (M) Monovalente	CD39-His humano biotinilado de K_D de equilíbrio MSD (M) incubado com Fab
SRF360-C	7.72E-10	4.40E-11
SRF365-C	5.56E-10	5.10E-11
SRF367-C	1.57E-09	2.40E-10
SRF370-C	2.59E-09	N.M.
SRF399-C	2.94E-09	5.30E-11

Fig. 7

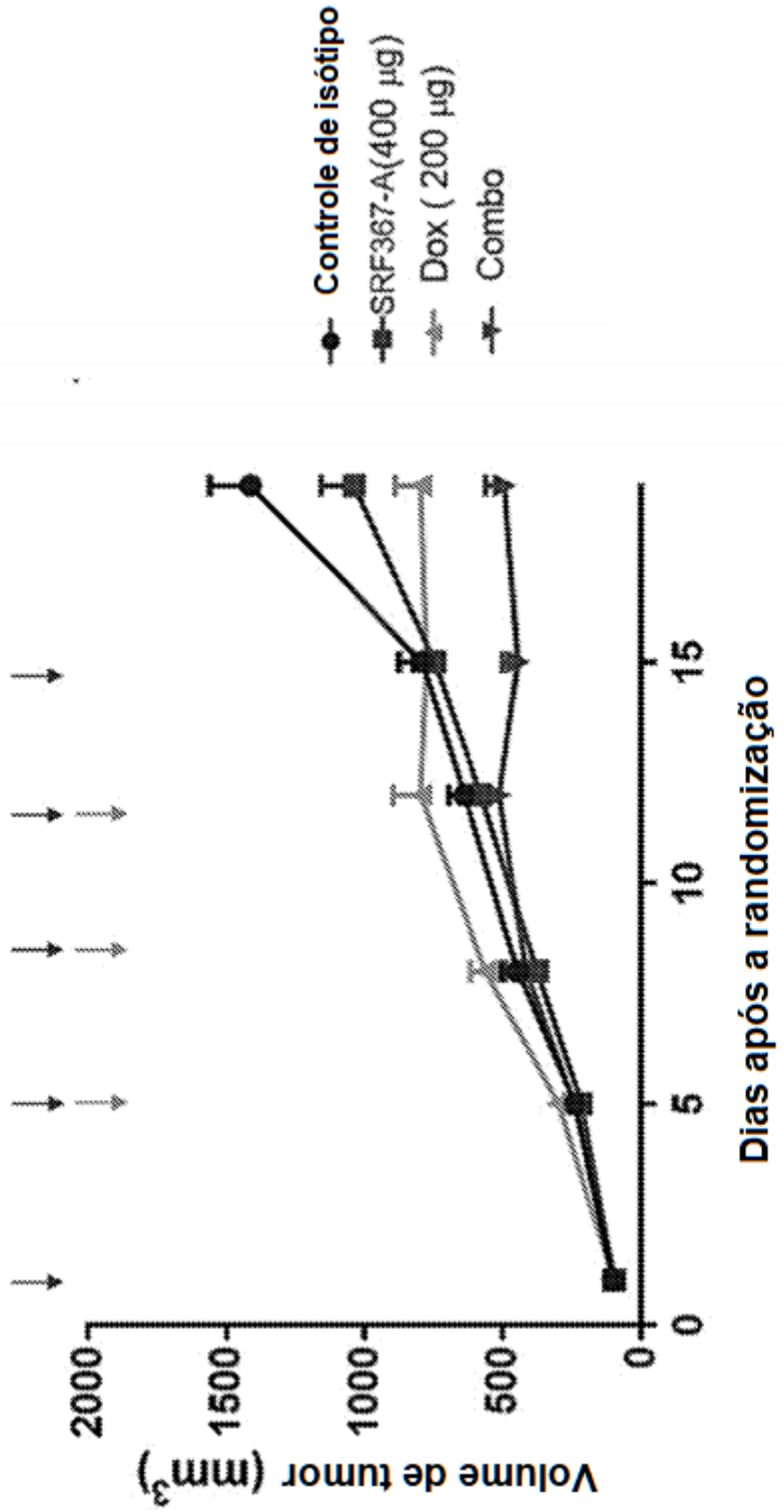

Controle de isótipo
SRF367-A(400 µg)
Dox (200 µg)
Combo
Volume de tumor (mm³)
2000
1500
1000
500
0
0
5
10
15
Dias após a randomização

Fig. 8A

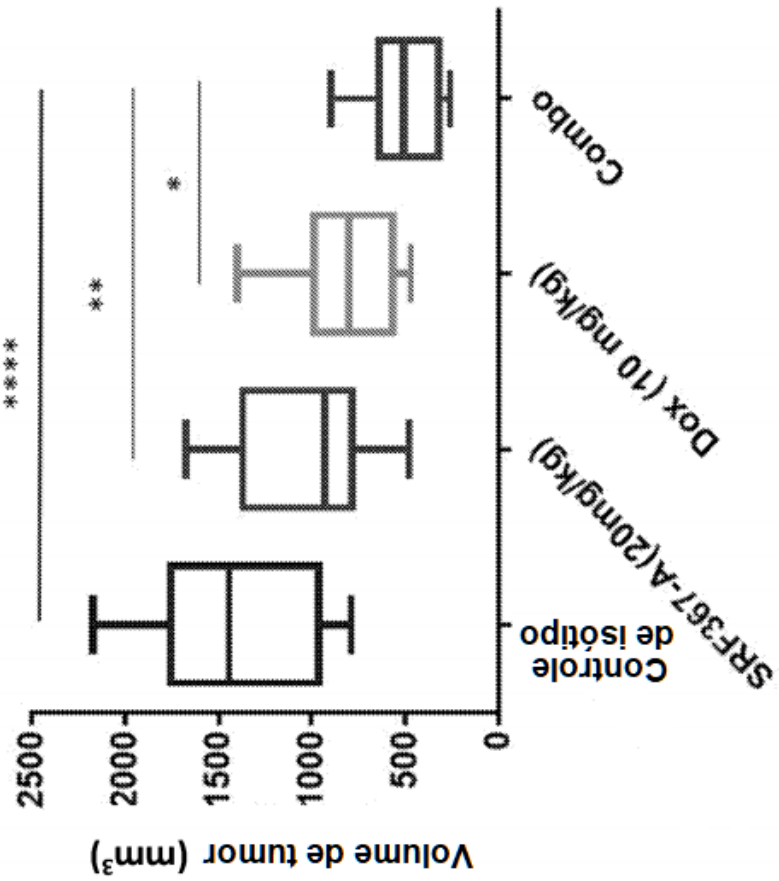

Volume de tumor (mm³)
2500
2000
1500
1000
500
0
Controle de isótipo
SRF367-A(20mg/kg)
Dox (10 mg/kg)
Combo
****
**
*

Fig. 8B

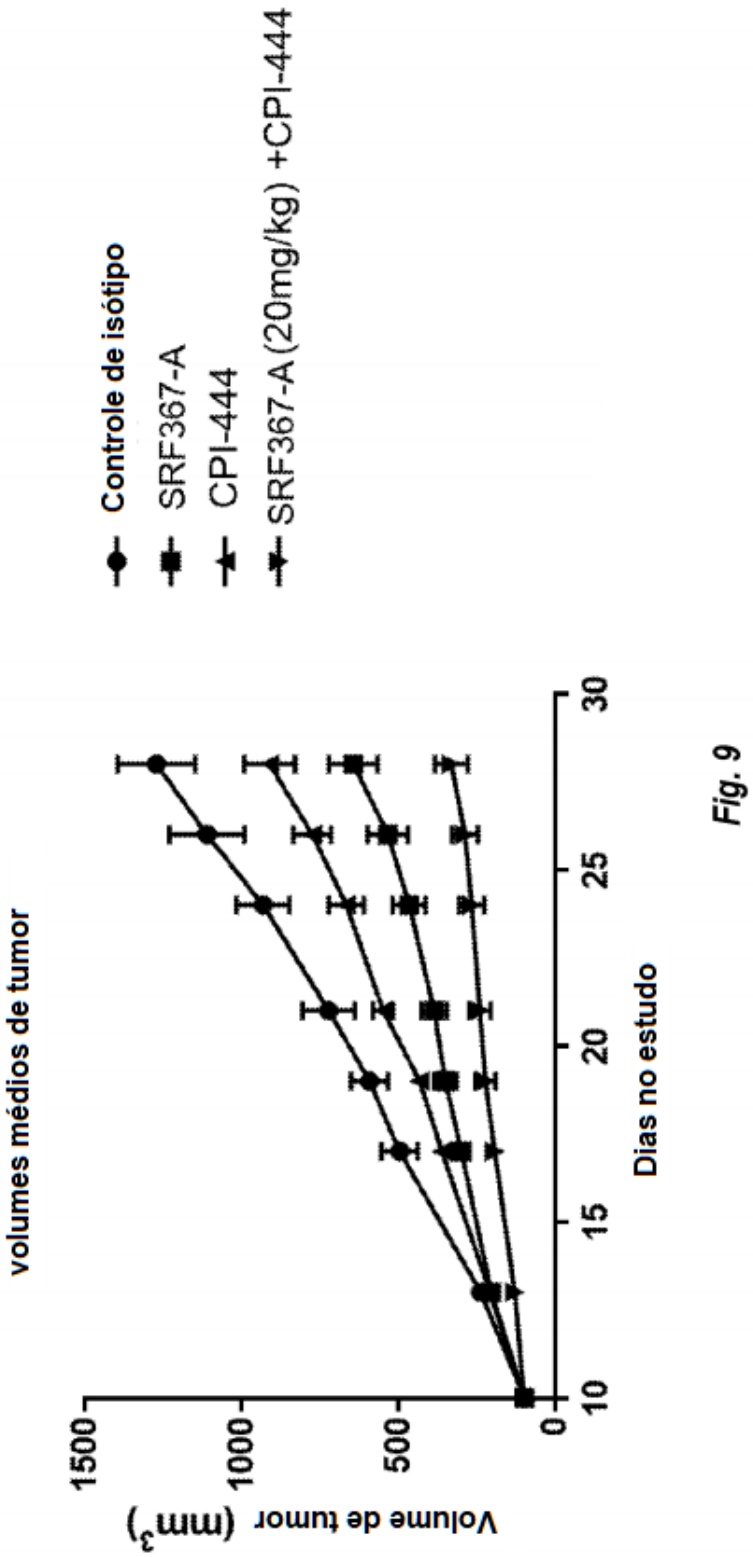

Controle de isótipo
SRF367-A
CPI-444
SRF367-A (20mg/kg) +CPI-444
volumes médios de tumor
Volume de tumor (mm³)
1500
1000
500
0
10
15
20
25
30
Dias no estudo

Fig. 9