



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

(21) BR 112020007309-1 A2



(22) Data do Depósito: 12/10/2018

(43) Data da Publicação Nacional: 29/09/2020

(54) **Título:** ANTICORPOS, ANTICORPOS ATIVÁVEIS, ANTICORPOS BIESPECÍFICOS E ANTICORPOS ATIVÁVEIS BIESPECÍFICOS E MÉTODOS DE USO DOS MESMOS

(51) **Int. Cl.:** C07K 16/28.

(30) **Prioridade Unionista:** 02/05/2018 US 62/666.065; 03/01/2018 US 62/613.358; 14/09/2018 US 62/731.622; 14/10/2017 US 62/572.468; 25/10/2017 US 62/577.140.

(71) **Depositante(es):** CYTOMX THERAPEUTICS, INC..

(72) **Inventor(es):** LEILA MARIE BOUSTANY; SHERRY L. LA PORTE; BRYAN A. IRVING; JEANNE GRACE FLANDEZ.

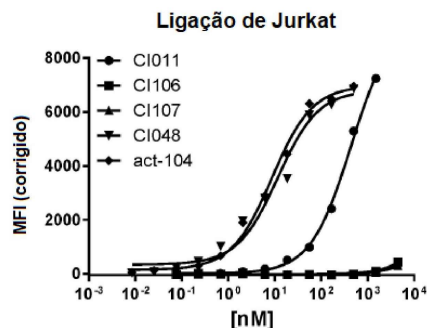
(86) **Pedido PCT:** PCT US2018055717 de 12/10/2018

(87) **Publicação PCT:** WO WO/2019/075405 de 18/04/2019

(85) **Data da Fase Nacional:** 13/04/2020

(57) **Resumo:** Trata-se de anticorpos, anticorpos ativáveis (AAs), anticorpos biespecíficos e anticorpos ativáveis biespecíficos (BAAs). Também são fornecidos no presente documento métodos para produzir e métodos para uso destes anticorpos, AAs, anticorpos biespecíficos e BAAs.

(1A)



“ANTICORPOS, ANTICORPOS ATIVÁVEIS, ANTICORPOS BIESPECÍFICOS E ANTICORPOS ATIVÁVEIS BIESPECÍFICOS E MÉTODOS DE USO DOS MESMOS”

REFERÊNCIA CRUZADA A PEDIDOS RELACIONADOS

[001] Este pedido reivindica o benefício do Pedido Provisório U.S. nº 62/572.468, depositado em 14 de outubro de 2017; Pedido Provisório U.S. nº 62/577.140, depositado em 25 de outubro de 2017; Pedido Provisório U.S. nº 62/613.358, depositado em 3 de janeiro de 2018; Pedido Provisório U.S. nº 62/666.065, depositado em 2 de maio de 2018; e Pedido Provisório U.S. nº 62/731.622, depositado em 14 de setembro de 2018, estando o conteúdo de cada um dos quais aqui incorporado a título de referência, em sua totalidade.

CAMPO DA INVENÇÃO

[002] Trata-se de anticorpos, anticorpos ativáveis (AAs), anticorpos biespecíficos e anticorpos ativáveis biespecíficos (BAAs). Também são fornecidos no presente documento métodos para produzir e métodos para uso destes anticorpos, AAs, anticorpos biespecíficos e BAAs.

REFERÊNCIA À LISTAGEM DE SEQUÊNCIAS

[003] A "Listagem de sequências" apresentada eletrônica e simultaneamente com o presente documento de acordo com o Título 37 do C.F.R. § 1.821 na forma legível por computador (CRF) via EFS-Web como o arquivo nome CYTX-045-US SEQLIST 10-08-18_St25.txt, está aqui incorporada, a título de referência. A cópia eletrônica da Listagem de Sequências foi criada em 10-12-18, e o tamanho no disco é de 440 kilobytes.

FUNDAMENTOS

[004] As terapias à base de anticorpos se revelaram tratamentos eficazes para várias doenças, mas em alguns casos, as toxicidades devido à expressão alvo ampla limitaram sua eficácia terapêutica. Além disto, a terapêutica à base de anticorpos exibiu outras limitações, como a rápida remoção da circulação após a administração.

[005] No campo da terapêutica de molécula pequena, foram desenvolvidas estratégias para fornecer pró-fármacos de uma entidade química ativa. Tais pró-fármacos são administrados numa forma relativamente inativa (ou significativamente menos ativa). Uma vez administrado, o pró-fármaco é metabolizado *in vivo* no composto ativo. Tais estratégias de pró-fármaco podem fornecer seletividade aumentada do fármaco para seu alvo pretendido e uma redução de efeitos adversos.

[006] Conseqüentemente, existe uma necessidade contínua no campo da terapêutica à base de anticorpos por anticorpos que imitem as características desejáveis do pró-fármaco de molécula pequena.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[007] São fornecidos no presente documento anticorpos, anticorpos biespecíficos, anticorpos ativáveis e anticorpos ativáveis biespecíficos, métodos de fabricação e métodos de uso dos mesmos. Estes encontram uso em terapêutica e diagnóstico. Os anticorpos ativáveis e anticorpos ativáveis biespecíficos da presente divulgação podem ser usados para reduzir danos ao tecido saudável geralmente causados por um anticorpo que se liga ao seu alvo em tecido saudável, bem como no tecido com doença.

[008] Conseqüentemente, num aspecto, são fornecidos no presente documento anticorpos ativáveis biespecíficos (BAA), em que o referido BAA, quando ativado, se liga especificamente a dois alvos e compreende a seguinte estrutura:

a) um anticorpo IgG (AB1) que se liga especificamente a um primeiro alvo, em que o AB1 compreende:

a. duas cadeias pesadas (HCs de AB1) e duas cadeias leves (LCs de AB1); e

b. uma primeira porção química de mascaramento (MM1) ligada a uma primeira porção química clivável (CM1) para formar um construto MM1-CM1, em que a terminação carboxila de um construto MM1-CM1 é ligada a cada terminação amino de cada cadeia leve do AB1, em que

- c. a MM1 inibe a ligação do AB1 ao seu alvo; e
- d. a CM1 é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma primeira protease,
 - b) dois scFvs (AB2) que se ligam, cada um, especificamente a um segundo alvo, em que cada AB2 compreende:
 - a. uma região variável de cadeia leve ligada a uma região variável de cadeia pesada, em que a terminação carboxila de cada AB2 é ligada à terminação amino de cada uma das cadeias pesadas de AB1; e
 - b. uma segunda porção química de mascaramento (MM2) ligada a uma segunda porção química clivável (CM2) para formar um construto MM2-CM2, em que a terminação carboxila de um construto MM2-CM2 é ligada à terminação amino de cada AB2 em que
 - c. a MM2 inibe a ligação do AB2 ao seu alvo; e
 - d. a CM2 é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma segunda protease,
 - c) e em que o BAA tem pelo menos uma das seguintes características:
 - a. MM2 compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO: 12;
 - b. MM1 compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em sequências apresentadas na Tabela 7;
 - c. AB2 compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2 ou SEQ ID NO: 3 ou um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 4; e
 - d. AB1 compreende uma região Fc que compreende uma substituição de aminoácido em pelo menos uma das posições de aminoácido L234, L235, N297, e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o BAA tenha função efetora reduzida.

[009] Em algumas modalidades, os BAAs fornecidos no presente documento compreendem:

Um anticorpo ativável biespecífico (BAA), em que o referido BAA,

quando ativado, se liga especificamente a dois alvos e compreende a seguinte estrutura:

a. um anticorpo de IgG (AB1) que se liga especificamente a um primeiro alvo em que o AB1 compreende duas cadeias pesadas (HCs de AB1) e duas cadeias leves (LCs de AB1); e em que o AB1 é ligado a uma primeira porção química de mascaramento (MM1) ligada a uma primeira porção química clivável (CM1) para formar um construto MM1-CM1, em que a terminação carboxila de um construto MM1-CM1 é ligada a cada terminação amino de cada cadeia leve do AB1, em que

a MM1 inibe a ligação do AB1 ao seu alvo; e

a CM1 é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma primeira protease,

b. dois scFvs (cada um AB2) que se ligam especificamente a um segundo alvo, em que cada AB2 compreende uma região variável de cadeia leve ligada a uma região variável de cadeia pesada, em que a terminação carboxila de cada AB2 é ligada à terminação amino de cada uma das cadeias pesadas de AB1; e em que cada AB2 é ligado a uma segunda porção química de mascaramento (MM2) ligada a uma segunda porção química clivável (CM2) para formar um construto MM2-CM2, em que a terminação carboxila de cada construto MM2-CM2 é ligada à terminação amino de cada AB2, em que

a MM2 inibe a ligação do AB2 ao seu alvo; e

a CM2 é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma segunda protease, e em que o BAA tem pelo menos uma das seguintes características:

i. MM2 compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO: 12;

ii. MM1 compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em sequências apresentadas na Tabela 7;

iii. AB2 compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2 ou SEQ ID NO: 3 ou um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID

NO: 4; e

iv. AB1 compreende uma região Fc que compreende uma substituição de aminoácido em pelo menos uma das posições de aminoácido L234, L235, N297, e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o BAA tenha função efetora reduzida.

[010] Em algumas modalidades, o BAA compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2 ou SEQ ID NO: 3 e um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 4. Em algumas modalidades, o AB1 se liga a um alvo de tumor e o AB2 se liga a um alvo efetor imune. Em algumas modalidades, o BAA é um AA (TCBAA) biespecífico de engate de célula T (TCB). Em algumas modalidades, o AB1 se liga a EGFR e o AB2 se liga a CD3. Em algumas modalidades, a MM1 compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em sequências apresentadas na Tabela 7. Em algumas modalidades, a MM1 compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste na SEQ ID NO: 85 e SEQ ID NO: 78. Em algumas modalidades, a MM1 compreende SEQ ID NO: 78. Em algumas modalidades, a MM2 compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 12. Em algumas modalidades, a CM compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 14. Em algumas modalidades, a CM compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 17. Em algumas modalidades, a CM compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 16. Em algumas modalidades, a CM1 compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que compreende SEQ ID NO: 14 e SEQ ID NO: 16. Em algumas modalidades, a CM2 compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que compreende SEQ ID NO: 14 e SEQ ID NO: 17. Em algumas modalidades, é fornecido no presente documento CI106 de BAA, que compreende a configuração e a sequência conforme fornecido na Tabela 11 e no Exemplo 1. Em algumas modalidades, é fornecido no presente documento CI107 de BAA, que compreende a configuração e a sequência conforme fornecido na Tabela

11 e no Exemplo 1. Em algumas modalidades, é fornecido no presente documento CI079 de BAA, que compreende a configuração e a sequência conforme fornecido na Tabela 11 e no Exemplo 1. Em algumas modalidades, é fornecido no presente documento CI090 de BAA, que compreende a configuração e a sequência conforme fornecido na Tabela 11 e no Exemplo 1. Em algumas modalidades, é fornecido no presente documento CI135 de BAA, que compreende a configuração e a sequência conforme fornecido na Tabela 11 e no Exemplo 1. Em algumas modalidades, é fornecido no presente documento CI136 de BAA, que compreende a configuração e a sequência conforme fornecido na Tabela 11 e no Exemplo 1. Em algumas modalidades, o AB1 compreende substituições de aminoácido em pelo menos duas das posições de aminoácido L234, L235 e P331. Em algumas modalidades, o AB1 compreende substituições de aminoácido nas posições de aminoácido L234, L235 e P331. Em algumas modalidades, o AB1 compreende substituições de aminoácido L234F, L235E e P331S. Em algumas modalidades, o AB1 compreende uma região Fc que compreende uma substituição de aminoácido em N297. Em algumas modalidades, o AB1 compreende substituições de aminoácido L234F, L235E, P331S e N297Q. Em algumas modalidades, a cadeia pesada do AB1 compreende qualquer uma das SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75 e SEQ ID NO: 76, conforme apresentado na Tabela 6.

[011] Num outro aspecto, é fornecido no presente documento um anticorpo ativável biespecífico (BAA) que compreende:

a) um anticorpo IgG (AB1) que se liga especificamente a um primeiro alvo, em que o AB1 compreende:

i. duas cadeias pesadas (HCs de AB1) e duas cadeias leves (LCs de AB1); e

ii. uma primeira porção química de mascaramento (MM1) ligada a uma primeira porção química clivável (CM1) para formar um construto MM1-CM1, em que a terminação carboxila de um construto MM1-CM1 é ligada a

cada terminação amino de cada cadeia leve do AB1, em que

a MM1 inibe a ligação do AB1 ao seu alvo; e

a CM1 é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma primeira protease,

b) dois scFvs (AB2) que se ligam, cada um, especificamente a um segundo alvo, em que cada AB2 compreende:

i. uma região variável de cadeia pesada ligada a uma região variável de cadeia leve, em que a terminação carboxila de cada AB2 é ligada à terminação amino de cada uma das cadeias pesadas de AB1; e

ii. uma segunda porção química de mascaramento (MM2) ligada a uma segunda porção química clivável (CM2) para formar um construto MM2-CM2, em que a terminação carboxila de um construto MM2-CM2 é ligada à terminação amino de cada AB2 em que

a MM2 inibe a ligação do AB2 ao seu alvo; e

a CM2 é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma segunda protease, e em que o AB1 compreende uma região Fc que compreende uma substituição de aminoácido em pelo menos uma das posições de aminoácido L234, L235, N297, e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o BAA tenha função efetora reduzida. Em algumas modalidades, a região Fc compreende substituições de aminoácido pelo menos nas posições de aminoácido L234, L235, N297 e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o BAA tenha função efetora reduzida. Em algumas modalidades, a região Fc compreende substituições de aminoácido pelo menos nas posições de aminoácido L234, L235 e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o BAA tenha função efetora reduzida. Em algumas modalidades, o primeiro alvo é selecionado do grupo que consiste nos alvos apresentados na Tabela 9 e o segundo alvo é selecionado do grupo que consiste nos alvos apresentados na Tabela 9.

[012] Em algumas modalidades, os BAAs fornecidos no presente

documento compreendem:

a) Um anticorpo ativável biespecífico (BAA) que compreende:

i) um anticorpo de IgG (AB1) que se liga especificamente a um primeiro alvo em que o AB1 compreende duas cadeias pesadas (HCs de AB1) e duas cadeias leves (LCs de AB1); e em que o AB1 é ligado a uma primeira porção química de mascaramento (MM1) ligada a uma primeira porção química clivável (CM1) para formar um construto MM1-CM1, em que a terminação carboxila de um construto MM1-CM1 é ligada a cada terminação amino de cada cadeia leve do AB1, em que

a MM1 inibe a ligação do AB1 ao seu alvo; e

a CM1 é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma primeira protease,

ii) dois scFvs (cada um AB2) que se ligam, cada um, especificamente a um segundo alvo, em que cada AB2 compreende uma região variável de cadeia pesada ligada a uma região variável de cadeia leve, em que a terminação carboxila de cada AB2 é ligada à terminação amino de cada uma das cadeias pesadas de AB1; e em que cada AB2 é ligado a uma segunda porção química de mascaramento (MM2) ligada a uma segunda porção química clivável (CM2) para formar um construto MM2-CM2, em que a terminação carboxila de cada construto MM2-CM2 é ligada à terminação amino de cada AB2, em que

a MM2 inibe a ligação do AB2 ao seu alvo; e

a CM2 é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma segunda protease,

e em que o AB1 compreende uma região Fc que compreende uma substituição de aminoácido em pelo menos uma das posições de aminoácido L234, L235, N297, e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o BAA tenha função efetora reduzida. Em algumas modalidades, a região Fc compreende substituições de aminoácido pelo menos nas posições de aminoácido L234, L235, N297 e P331, conforme

numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o BAA tenha função efetora reduzida. Em algumas modalidades, a região Fc compreende substituições de aminoácido pelo menos nas posições de aminoácido L234, L235 e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o BAA tenha função efetora reduzida. Em algumas modalidades, o primeiro alvo é selecionado do grupo que consiste nos alvos apresentados na Tabela 9 e o segundo alvo é selecionado do grupo que consiste nos alvos apresentados na Tabela 9.

[013] Num outro aspecto, é fornecido no presente documento um anticorpo ativável (AA) que compreende: (a) um anticorpo (AB) que se liga especificamente ao receptor de fator de crescimento epidérmico (EGFR), em que o AB é um anticorpo IgG1, e em que a região Fc do AB compreende uma substituição de aminoácido em pelo menos uma das posições de aminoácido L234, L235 e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o AA tenha função efetora reduzida; (b) uma porção química de mascaramento (MM) acoplada ao AB, em que a MM reduz ou inibe a ligação do AB ao EGFR quando o AA está num estado não clivado; e (c) uma porção química clivável (CM) acoplada ao AB, em que a CM é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma protease. Em algumas modalidades, a substituição de aminoácido é qualquer uma ou mais de L234F, L235E e P331S. Em algumas modalidades, o AB compreende substituições de aminoácido em pelo menos duas das posições de aminoácido L234, L235 e P331. Em algumas modalidades, o AB compreende substituições de aminoácido nas posições de aminoácido L234, L235 e P331. Em algumas modalidades, o AB compreende substituições de aminoácido L234F, L235E e P331S. Em algumas modalidades, o AB compreende uma região Fc que compreende uma substituição de aminoácido em N297. Em algumas modalidades, a região Fc compreende uma mutação N297Q. Em algumas modalidades, o AB compreende L234F, L235E, P331S e N297Q substituições de aminoácido. Em algumas modalidades, a MM compreende uma sequência

de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em sequências apresentadas na Tabela 7. Em algumas modalidades, a MM compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 78. Em algumas modalidades, a MM compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 85. Em algumas modalidades, a CM compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em sequências apresentadas na Tabela 4. Em algumas modalidades, a CM compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 14. Em algumas modalidades, a CM compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 16. Em algumas modalidades, o AA é parte de um BAA.

[014] Num outro aspecto, é fornecido no presente documento um anticorpo ativável (AA) que compreende: (a) um anticorpo ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo (AB) que se liga especificamente ao receptor de fator de crescimento epidérmico (EGFR); (b) uma porção química de mascaramento (MM) acoplada ao AB, em que a MM reduz ou inibe a ligação do AB ao EGFR quando o AA está num estado não clivado, e em que a MM compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas sequências apresentadas na Tabela 7; e (c) uma porção química clivável (CM) acoplada ao AB, em que a CM é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma protease. Em algumas modalidades, a MM compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 78. Em algumas modalidades, a CM compreende um substrato clivável por uma serina protease ou uma MMP. Em algumas modalidades, a CM compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste na SEQ ID NO: 18-56. Em algumas modalidades, a CM compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 14. Em algumas modalidades, a CM compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 16. Em algumas modalidades, o AA é parte de um BAA.

[015] Num outro aspecto, é fornecido no presente documento um anticorpo ativável (AA) que compreende:

[016] (a) um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do

mesmo (AB) que se liga especificamente à cadeia épsilon de CD3, em que o anticorpo compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2 ou SEQ ID NO: 3 ou compreende um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 4; (b) uma porção química de mascaramento (MM) acoplada ao AB, em que a MM reduz ou inibe a ligação do AB ao CD3 quando o AA está num estado não clivado; e (c) uma porção química clivável (CM) acoplada ao AB, em que a CM é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma protease. Em algumas modalidades, o AB compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2. Em algumas modalidades, o AB compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 3. Em algumas modalidades, o AB compreende um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1. Em algumas modalidades, o AB compreende um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 4. Em algumas modalidades, o AB compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2 e um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1. Em algumas modalidades, o AB compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 3 e um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1. Em algumas modalidades, o AB compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2 e um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 4. Em algumas modalidades, o AB compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 3 e um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 4. Em algumas modalidades, a MM compreende qualquer uma das sequências apresentadas na Tabela 3. Em algumas modalidades, a CM compreende qualquer uma das sequências apresentadas na Tabela 4. Em algumas modalidades, o AA é parte de um BAA.

[017] Num outro aspecto, é fornecido no presente documento um anticorpo ativável (AA) que compreende: (a) um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo (AB) que se liga especificamente à cadeia épsilon de CD3; (b) uma porção química de mascaramento (MM) acoplada ao AB, em que a MM reduz ou inibe a ligação do AB ao CD3 quando o AA está num estado não clivado, em que a MM compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO: 12 e (b) uma porção química clivável (CM) acoplada ao AB, em que a CM é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma protease. Em algumas modalidades, a CM compreende qualquer uma das sequências apresentadas na Tabela 4. Em algumas modalidades, a CM compreende um substrato clivável por uma serina protease ou uma MMP. Em algumas modalidades, a CM compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste na SEQ ID NO: 18-56. Em algumas modalidades, a protease é uma MMP. Em algumas modalidades, a protease é uma serina protease. Em algumas modalidades, o AA é parte de um BAA.

[018] Num outro aspecto, é fornecido no presente documento um anticorpo ativável (AA) que compreende: (a) um anticorpo (AB) que se liga especificamente a um alvo, em que o anticorpo é um anticorpo IgG1, e em que a região Fc do anticorpo compreende uma substituição de aminoácido em pelo menos uma das posições de aminoácido L234, L235 e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o AA tenha função efetora reduzida; (b) uma porção química de mascaramento (MM) acoplada ao AB, em que a MM reduz ou inibe a ligação do AB ao alvo quando o AA está num estado não clivado; e (c) uma porção química clivável (CM) acoplada ao AB, em que a CM é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma protease. Em algumas modalidades, a região Fc compreende substituições de aminoácido pelo menos nas posições de aminoácido L234, L235, N297 e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o AA tenha função efetora reduzida. Em algumas modalidades, o alvo é selecionado do grupo que

consiste nos alvos apresentados na Tabela 9. Em algumas modalidades, o AA é parte de um BAA.

[019] Num outro aspecto, é fornecido no presente documento um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo (AB) que se liga especificamente à cadeia épsilon de CD3, em que o anticorpo compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2 ou SEQ ID NO: 3 ou um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 4. Em algumas modalidades, o anticorpo compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2 ou SEQ ID NO: 3 e um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 4. Em algumas modalidades, o AB compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2. Em algumas modalidades, o AB compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 3. Em algumas modalidades, o AB compreende um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1. Em algumas modalidades, o AB compreende um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 4. Em algumas modalidades, o AB compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2 e um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1. Em algumas modalidades, o AB compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 3 e um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1. Em algumas modalidades, o AB compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 3 e um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 4. Em algumas modalidades, o AB compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2 e um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 4. Em algumas modalidades, o anticorpo é um AB biespecífico. Em algumas modalidades, o anticorpo é um scFv. Em algumas modalidades, o

anticorpo é um anticorpo IgG1. Em algumas modalidades, o anticorpo é parte de um AA ou é parte de um BAA.

[020] Num outro aspecto, é fornecido no presente documento um anticorpo que se liga especificamente a EGFR ou CD3 (AB), em que o anticorpo é um anticorpo IgG1 ou um scFv ligado a um domínio Fc, em que o anticorpo compreende uma região Fc que compreende uma substituição de aminoácido em pelo menos uma das posições de aminoácido L234, L235 e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o anticorpo tenha função efetora reduzida. Em algumas modalidades, a substituição de aminoácido é qualquer uma ou mais de L234F, L235E e P331S. Em algumas modalidades, o anticorpo compreende substituições de aminoácido em pelo menos duas das posições de aminoácido L234, L235 e P331. Em algumas modalidades, o anticorpo compreende substituições de aminoácido nas posições de aminoácido L234, L235 e P331. Em algumas modalidades, o anticorpo compreende substituições de aminoácido L234F, L235E e P331S. Em algumas modalidades, o anticorpo compreende uma região Fc que compreende uma substituição de aminoácido em N297. Em algumas modalidades, a região Fc compreende uma mutação N297Q. Em algumas modalidades, o anticorpo compreende substituições de aminoácido L234F, L235E, P331S e N297Q. Em algumas modalidades, a cadeia pesada do anticorpo compreende qualquer uma das SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75 e SEQ ID NO: 76, conforme apresentado na Tabela 6. Em algumas modalidades, o domínio variável de cadeia pesada do anticorpo compreende qualquer uma das SEQ ID NO: 2 ou SEQ ID NO: 3 ou em que o domínio variável de cadeia leve do AB compreende qualquer uma das SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 4. Em algumas modalidades, o anticorpo é parte de um AA ou é parte de um BAA.

[021] Num outro aspecto, também é fornecida no presente documento uma composição farmacêutica que compreende: qualquer um

dentre os BAAs, AAs e anticorpos descritos acima e opcionalmente um carreador. Num outro aspecto, também é fornecida no presente documento uma composição farmacêutica que compreende qualquer um dentre os BAAs, AAs e anticorpos descritos acima e um carreador. Em algumas modalidades, a composição compreende um agente adicional, por exemplo, o agente adicional pode ser um agente terapêutico.

[022] Num outro aspecto, também são fornecidas no presente documento moléculas de ácido nucleico isoladas que codificam qualquer um dentre os BAAs, AAs e anticorpos descritos acima. Também são fornecidos vetores que compreendem o ácido nucleico. Em algumas modalidades, o vetor compreende a sequência de ácidos nucleicos de pLW289. Em algumas modalidades, o vetor compreende a sequência de ácidos nucleicos de pLW246. Em algumas modalidades, o vetor compreende a sequência de ácidos nucleicos de pLW307. Em algumas modalidades, o vetor compreende a sequência de ácidos nucleicos de pLW291. Em algumas modalidades, o vetor compreende a sequência de ácidos nucleicos de pLW352. Em algumas modalidades, o vetor compreende a sequência de ácidos nucleicos de pLW246. Em algumas modalidades, o vetor compreende a sequência de ácidos nucleicos de pLW353.

[023] Num outro aspecto, também é fornecida no presente documento uma célula que compreende qualquer um dos vetores descritos acima. Em algumas modalidades, é fornecida no presente documento uma célula que compreende pLW289 e pLW246. Em algumas modalidades, é fornecida no presente documento uma célula que compreende pLW307 e pLW291. Em algumas modalidades, é fornecida no presente documento uma célula que compreende pLW352 e pLW246. Em algumas modalidades, é fornecida no presente documento uma célula que compreende pLW353 e pLW246.

[024] Num outro aspecto, são fornecidos no presente documento métodos para produzir o anticorpo, AA, ou BAA fornecido acima, por meio da

cultura de uma célula sob condições que levam à expressão do anticorpo, AA, ou BAA, em que a célula compreende a molécula de ácido nucleico relevante ou vetores fornecidos no presente documento.

[025] Num outro aspecto, é fornecido no presente documento um método para tratar, aliviar um sintoma de ou atrasar o progresso de um distúrbio ou doença que compreende administrar uma quantidade terapêuticamente eficaz dos anticorpos/AAs/BAA/composições farmacêuticas descritas acima a um indivíduo que precisa do mesmo. Em algumas modalidades, o distúrbio ou doença compreende células de doença que expressam EGFR. Em algumas modalidades, o distúrbio ou doença é câncer. Em algumas modalidades, o câncer é câncer anal, carcinoma de célula basal, câncer de cérebro, câncer de bexiga, câncer de mama, câncer ósseo, câncer cervical, colangiocarcinoma, câncer colorretal, câncer de endométrio, câncer esofágico, câncer de vesícula biliar, câncer gástrico, glioblastoma, câncer de cabeça e pescoço, câncer de fígado, câncer de pulmão, câncer de ovário, câncer pancreático, câncer de próstata, câncer renal, sarcoma, carcinoma de intestino delgado, câncer de pele, câncer testicular, câncer de tireoide ou câncer uterino. Em algumas modalidades, o distúrbio é linfoma, *por exemplo* linfoma associado a vírus Epstein-Barr, linfoma de célula B, linfoma de célula T, linfoma de Hodgkins e não Hodgkins. Em algumas modalidades, o câncer é um câncer de célula escamosa. Em algumas modalidades, o câncer é um câncer de célula escamosa de cabeça e pescoço. Em algumas modalidades, o câncer é um carcinoma de célula escamosa. Em algumas modalidades, o câncer é um carcinoma de célula escamosa esofágico. Em algumas modalidades, o câncer é um carcinoma de célula escamosa de cabeça e pescoço. Em algumas modalidades, o câncer é um carcinoma de célula escamosa de pulmão.

[026] Num outro aspecto, é fornecido no presente documento um método para inibir a angiogênese num indivíduo que compreende administrar uma quantidade terapêuticamente eficaz dos anticorpos/AAs/BAA/composições farmacêuticas descritos acima a um

indivíduo que precisa do mesmo. Em algumas modalidades, o método compreende administrar um agente adicional. Em algumas modalidades, o agente adicional é um agente terapêutico.

[027] Num outro aspecto, é fornecido no presente documento um método para reduzir danos ao tecido saudável causados por um anticorpo que se liga ao seu alvo em tecido saudável, bem como em tecido com doença (por exemplo, tecido canceroso), sendo que o método compreende administrar a um indivíduo que precisa do mesmo um AA ou BAA ou uma composição farmacêutica que compreende um AA ou BAA, em que o referido AA ou BAA é um AA ou BAA de qualquer uma das modalidades fornecidas no presente documento.

[028] Num outro aspecto, é fornecido no presente documento um método para melhorar a tolerabilidade de um tratamento de anticorpo que compreende administrar a um indivíduo que precisa do mesmo (por exemplo, um indivíduo que sofre de câncer) um AA ou BAA ou uma composição farmacêutica que compreende um AA ou BAA, em que o referido AA ou BAA é um AA ou BAA de qualquer uma das modalidades fornecidas no presente documento.

[029] Num outro aspecto, é fornecido no presente documento um método para recrutar células T para tecido de tumor que compreende administrar a um indivíduo que precisa do mesmo um AA ou BAA ou uma composição farmacêutica que compreende um AA ou BAA, em que o referido AA ou BAA é um AA ou BAA de qualquer uma das modalidades fornecidas no presente documento.

[030] Num outro aspecto, é fornecido no presente documento um anticorpo, AA, BAA ou uma composição farmacêutica, de qualquer uma das modalidades fornecidas no presente documento, para uso como um medicamento. O medicamento pode ser para uso num método para reduzir danos ao tecido saudável causados por um anticorpo que se liga ao seu alvo em tecido saudável, bem como em tecido com doença. O medicamento pode

ser para uso na melhora da tolerabilidade de um tratamento de anticorpo.

[031] Num outro aspecto, é fornecida no presente documento um anticorpo, AA, BAA ou composição farmacêutica, de qualquer uma das modalidades fornecidas no presente documento, para uso no método para tratar, aliviar um sintoma de ou atrasar o progresso de um distúrbio ou doença, em que o distúrbio ou doença compreende células de doença que expressam EGFR.

[032] Num outro aspecto, é fornecido no presente documento um anticorpo, AA, BAA ou composição farmacêutica, de qualquer uma das modalidades fornecidas no presente documento, para uso num método para tratar câncer; opcionalmente em que o câncer é câncer anal, carcinoma de célula basal, câncer de cérebro, câncer de bexiga, câncer de mama, câncer ósseo, câncer cervical, colangiocarcinoma, câncer colorretal, câncer de endométrio, câncer esofágico, câncer de vesícula biliar, câncer gástrico, glioblastoma, câncer de cabeça e pescoço, câncer de fígado, câncer de pulmão, câncer de ovário, câncer pancreático, câncer de próstata, câncer renal, sarcoma, carcinoma de intestino delgado, câncer de célula escamosa, câncer de pele, câncer testicular, câncer de tireoide ou câncer uterino. O uso pode compreender o recrutamento de células T para o tecido de tumor.

[033] Num outro aspecto, é fornecido no presente documento um anticorpo, AA, BAA ou composição farmacêutica, de qualquer uma das modalidades fornecidas no presente documento, para uso num método que compreende inibir a angiogênese.

[034] O anticorpo, AA, BAA ou composição farmacêutica, de qualquer uma das modalidades fornecidas no presente documento, pode ser para uso num método de tratamento que compreende administrar um agente adicional; opcionalmente em que o agente adicional é um agente terapêutico.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[035] A Figura 1A demonstra que a incorporação do peptídeo de mascaramento h20GG CD3ε nos BAAs mascarados com EGFR CI106 e CI107

reduziu significativamente a ligação a células Jurkat em relação a CI011. Uma redução em ligação a células EGFR+ HT29-luc2 também foi evidente para CI106 e CI107 em relação a CI011 (Figura 1B).

[036] A Figura 2A demonstra que o extermínio de células EGFR+ HT29-luc2 foi adicionalmente atenuado por CI106 e CI107 em relação a CI011 e CI040. A Figura 2B mostra que nenhuma citotoxicidade detectável foi observada quando as células foram tratadas com CI127 e CI128 demonstrando a dependência de alvejamento de EGFR para extermínio de células. A Figura 2B também representa um deslocamento de EC50 maior que 300.000 vezes dos anticorpos duplamente mascarados (isto é, BAAs mascarados tanto nos domínios de ligação de alvo EGFR como CD3) CI106 e CI107 em relação ao anticorpo biespecífico ativado por protease (isto é, BAA ativado pelo tratamento de protease) act-104 (denominado de forma intercambiável como CI104). A Figura 2C representa o n de receptor EGFR num painel de linhagens de células que inclui HT29. O número de receptor EGFR aproximado em células HT29 foi de 75.000, indicando que a alta densidade de antígeno não foi necessária para a citotoxicidade potente dos BAAs testados.

[037] A Figura 3A demonstra que a ativação de células CD8+ T primárias foi atenuada por CI106 e CI107, em relação a CI011 e CI040. A Figura 3B demonstra que os anticorpos duplamente mascarados exibem uma curva de resposta à dose deslocada para ativação de célula T em relação ao anticorpo biespecífico ativado por protease act-104, indicando que o mascaramento atenua a ativação de célula T.

[038] A Figura 4, que plota volume de tumor versus dias após dose de tratamento inicial, demonstra um efeito dependente de dose de CI106 e CI107, AAs biespecíficos duplamente mascarados , no crescimento de tumores de xenoenxerto de HT29-luc2.

[039] A Figura 5, que plota volume de tumor versus dias após dose de tratamento inicial, demonstrou um efeito dependente de dose de CI106 e CI107, AAs biespecíficos duplamente mascarados , no crescimento de

tumores de xenoenxerto de HCT116.

[040] As Figuras 6A a 6B demonstram que as EC50s dos anticorpos biespecíficos ativados por protease e duplamente mascarados testados são similares quando as células efectoras humanas (6A) ou cino (6B) são usadas. As Figuras 6C a 6D demonstram que a ligação dos anticorpos ativados por protease e duplamente mascarados a células T humanas (6C) e cino (6D) é similar.

[041] As Figuras 7A a 7C representam concentrações séricas pré-dose, 48 h e 7 dias após dose de ALT (7A), AST (7B) e bilirrubina total (7C) em macacos cinomolgos tratados com CI106 ou CI107.

[042] As Figuras 8A a 8C plotam o aumentam em níveis séricos de citocina para IL-2 (8A), IL-6 (8B) e IFN-g (8C) em macacos cinomolgos tratados com CI106 ou CI107.

[043] As Figuras 9A a 9C representam a ativação de célula T conforme medido pela expressão de CD69 (9A), Ki67 (9B) e PD-1 (9B) em células CD4+ T em macacos cinomolgos tratados com CI106 ou CI107.

[044] As Figuras 10A a E plotam aumentos dependentes de dose em AST em 48 h pós-dose (10A), ALT em 48 h pós-dose (10B), IL-6 em 8 h pós-dose (10C), IFNg em 8 h pós-dose (10D) e Ki67 em 72 h pós-dose (10E) em macacos cinomolgos tratados com act-104, CI106 ou CI107. A curva de resposta à dose para todos os parâmetros foi deslocada para os anticorpos duplamente mascarados indicando tolerabilidade melhorada e efeitos de farmacodinâmica diminuídos em relação ao anticorpo biespecífico ativado por protease.

[045] As Figuras 11A a 11C comparam os efeitos de CI107 de ligação de EGFR e CI128 de não ligação de EGFR (RSVxCD3) em aumentos em bilirrubina total (11A), IL-6 (11B) e células CD4+ T que expressam PD-1 (11C) em macacos cinomolgos tratados com CI107 ou CI128.

[046] A Figura 12A representa as medições de afinidade de anticorpos v12, v16 e v19 CD3 em relação a hSP34. A Figura 12B representa a

citotoxicidade de anticorpos biespecíficos duplamente mascarados ou ativados em células HT29-luc2.

[047] A Figura 13 representa a PK estendida do anticorpo duplamente mascarado, CI107, em relação ao anticorpo biespecífico ativado por protease, act-104.

[048] A Figura 14A representa a eficácia num modelo de intervenção de tumor HT29-luc2 em camundongos NSG enxertados com PBMC. A potência anti-tumor neste exemplo está correlacionada à sensibilidade de protease e clivabilidade de substrato dos artigos de teste, com o artigo de teste mais eficaz sendo o CI048 totalmente ativado por protease. A Figura 14B representa a coloração de seções de tumor para CD3 (coloração escura) como uma medição do grau de infiltração de células T em tumores. A infiltração de células T de tumor está correlacionada à sensibilidade de protease e clivabilidade de substrato dos artigos de teste.

[049] A Figura 15 e Figura 16 são plotagens de isotermas de ligação para anticorpos C225v5 anti-EGFR ativáveis da divulgação, para o anticorpo 3954-2001-C225v5 anti-EGFR ativável descrito no presente documento e para anticorpo C225v5 anti-EGFR.

[050] As Figuras 17 a 19 ilustram BAAs exemplificadores fornecidos no presente documento.

[051] A Figura 20 representa PK do BAA duplamente mascarado CI107 após uma administração de dose única de 600, 2000 ou 4000 ug/kg.

[052] A Figura 21 demonstra que a citotoxicidade de CI090 e CI091 foi atenuada em relação a CI011, nas células HT29-luc2.

[053] A Figura 22 demonstra que a ativação de células CD8 + T primárias foi atenuada por CI090 e CI091 em relação a CI011.

[054] A Figura 23 representa a eficácia num modelo de intervenção de tumor HT29-luc2 em camundongos NSG enxertados com PBMC. Mostrando a potência anti-tumor de CI091, CI090 e CI011.

[055] A Figura 24 plota níveis de IL-6 no estudo *in vivo* de

macacos cinomolgos em 8 h pós-dose.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[056] São fornecidos no presente documento anticorpos, anticorpos ativáveis (AAs), anticorpos biespecíficos e anticorpos ativáveis biespecíficos (BAAs).

[057] Em algumas modalidades, são fornecidos no presente documento anticorpos humanizados que se ligam especificamente à cadeia épsilon de CD3 (CD3 ϵ ; denominado no presente documento intercambiavelmente como CD3).

[058] Em algumas modalidades, são fornecidos no presente documento anticorpos IgG1 que se ligam especificamente ao receptor de fator de crescimento epidérmico (EGFR), em que os anticorpos compreendem mutações pontuais na região Fc, de modo que o anticorpo tenha função efetora reduzida.

[059] Em algumas modalidades, são fornecidos no presente documento AAs, por exemplo, AAs que se ligam especificamente a EGFR ou CD3. Estes AAs são otimizados para afinidade, função efetora, mascaramento e clivabilidade.

[060] Em algumas modalidades, são fornecidos no presente documento BAAs, por exemplo, BAAs que se ligam a um antígeno alvo (por exemplo, antígeno de tumor, como um alvo apresentado na Tabela 9) e um segundo antígeno (por exemplo, antígeno efetor imune numa célula efetora imune. Em algumas modalidades, a célula efetora imune é uma célula de leucócito. Em algumas modalidades, a célula efetora imune é uma célula T. Em algumas modalidades, a célula efetora imune é uma célula natural killer (NK). Em algumas modalidades, a célula efetora imune é uma célula de macrófago. Em algumas modalidades, a célula efetora imune é uma célula mononuclear, como uma célula mononuclear mieloide. Em algumas modalidades, os BAAs são BAAs de engate de célula efetora imune. Em algumas modalidades, os

BAAs são BAAs de engate de célula de leucócito. Em algumas modalidades, os BAAs são AAs biespecíficos de engate de célula T (TCB), também denominados no presente documento como TCBAAs. Em algumas modalidades, os BAAs são BAAs de engate de célula NK. Em algumas modalidades, os BAAs são BAAs de engate de célula de macrófago. Em algumas modalidades, os BAAs são BAAs de engate de célula mononuclear, como BAAs de engate de célula mononuclear mieloide. Em algumas modalidades, os anticorpos biespecíficos se ligam a EGFR e CD3. Estes BAAs são otimizados para afinidade, função efetora, mascaramento e clivabilidade.

[061] Também são fornecidos no presente documento métodos para produzir e métodos para uso destes anticorpos, AAs e BAAs. AAs, incluindo a produção geral dos mesmos e identificação de porções químicas de mascaramento (MMs) e porções cliváveis (CMs) são descritos na Publicação internacional n° WO 2009/025846 por Daugherty et al., publicada em 26 de fevereiro de 2009 e WO 2010/081173 por Stagliano et al., publicada em 15 de julho de 2010, ambas das quais estão aqui incorporados a título de referência, em sua totalidade. BAAs, incluindo a produção geral dos mesmos e identificação de porções químicas de mascaramento (MMs) e porções cliváveis (CMs) são descritos na Publicação internacional n° WO2015/013671 por Lowman et al., publicada em 29 de janeiro de 2015 e WO2016/014974 por Irving et al., publicada em 28 de janeiro de 2016, ambas das quais estão aqui incorporados a título de referência, em sua totalidade. Está também incorporada a título de referência a Publicação internacional n° WO2016/014974 por Irving et al., publicada em 28 de janeiro de 2016 e Publicação internacional n° WO2016/118629 por Moore et al., publicada em 28 de julho de 2016 que fornecem AAs, produção, MMs e CMs.

[062] Como usado no presente documento, exceto onde especificado em contrário, o termo “anticorpo” inclui um anticorpo ou fragmento de ligação a antígeno do mesmo que se liga especificamente ao seu alvo e é um anticorpo monoclonal, anticorpo de domínio, cadeia única, fragmento Fab,

um fragmento F(ab')₂, um scFv, um scAb, um dAb, um anticorpo de cadeia pesada de domínio único e um anticorpo de cadeia leve de domínio único. Em algumas modalidades, o anticorpo é um anticorpo IgG. Em algumas modalidades, o anticorpo é um anticorpo IgG1. Em algumas modalidades, o anticorpo é um anticorpo IgG4. Em algumas modalidades, o anticorpo é um anticorpo scFv. Em algumas modalidades, tal anticorpo ou fragmento imunologicamente ativo do mesmo que se liga ao seu alvo é um anticorpo monoclonal de camundongo, quimérico, humanizado ou completamente humano.

1. ANTICORPOS CD3

[063] É fornecido no presente documento um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo (AB) que se liga especificamente à cadeia épsilon de CD3 (CD3 ϵ , denominado por todo o presente documento como CD3).

[064] As sequências de aminoácidos exemplificadoras de anticorpos de ligação de CD3 da divulgação (domínios variáveis) são fornecidas na Tabela 1. (Sequências CDR previstas são sublinhadas). Conforme fornecido abaixo, L3 é um ligante, que liga os domínios variáveis de cadeia leve e pesada, nos anticorpos de ligação de CD3 exemplificadores.

Tabela 1					
<u>Variante anti-CD3 v12</u>					
<i>Domínio</i>	<i>variável</i>	<i>de</i>	<i>cadeia</i>	<i>leve</i>	<i>LV12</i>
QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLT <u>CRSSTGAVTTSNYANWVQQTPGQAPRGLIG</u>					
<u>GTNKRAPGVPDRFSGSILGNKAALTITGAQADDES</u> <u>YCALWYSNLWVFGG</u>					
GTKLTVL (SEQ ID NO: 1)					
<i>Domínio variável de cadeia pesada HV12, em que L3 é SEQ ID NO: 98</i>					

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKGLEWVARI
 RSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGN
 FGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 2)

LV12-L3-HV12

QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQTPGQAPRGLIG
 GTNKRAPGVPDRFSGSILGNKAALTITGAQADDESYYCALWYSNLWVFGG
 GTKLTVL[GGGGSGGGGSGGGGS]EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGF
 TFSTYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSK
 NSLYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS
 (SEQ ID NO: 143)

Variante anti-CD3 v16

Domínio variável de cadeia leve LV12

Sequência fornecida acima

Domínio variável de cadeia pesada HV20

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSTYAMNWRQASGKGLEWVGR
 IRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRHG
 NFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 3)

LV12-L3-HV20, em que L3 é SEQ ID NO: 98

QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQTPGQAPRGLIG
GTNKRAPGVPDRFSGSILGNKAALTITGAQADDESY^CALWYSNLWVFGG
 GTKLTVL[GGGGSGGGGSGGGGS]EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF
 TFSTYAMNWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSK
 NTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS
 (SEQ ID NO: 144)

Variante anti-CD3 v19

Domínio variável de cadeia leve LV19
 QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIG
GTNKRAPGTPARFSGSLIGGKAALTLSGAQPEDEAEY^CALWYSNLWVFGG
 GTKLTVL (SEQ ID NO: 4)

Domínio variável de cadeia pesada HV20

Sequência fornecida acima

LV19-L3-HV20, em que L3 é SEQ ID NO: 98

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIG
GTNKRAPGTPARFSGSLIGGKAALTLSGAQPEDEAEY^CALWYSNLWVFGG
 GTKLTVL[GGGGSGGGGSGGGGS]EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF
 TFSTYAMNWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSK
 NTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS
 (SEQ ID NO: 145)

Variante anti-CD3 v26

Domínio variável de cadeia leve LV19

Sequência fornecida acima

<i>Domínio variável de cadeia pesada HV12</i>
Sequência fornecida acima
<i>LV19-L3-HV12, em que L3 é SEQ ID NO: 98</i>
QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGG GTKLTVL[GGGGSGGGGSGGGGS]EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGF TFSTYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSK NSLYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 150)

[065] Os ligantes de scFv exemplificadores (denominados no presente documento como “L3” que liga uma VH e VL) são fornecidos na Tabela 1-1.

TABELA 1-1

SEQ ID NO:	Sequência de aminoácidos de ligante
98	GGGGSGGGGSGGGGS

[066] As sequências de CDR exemplificadoras de anticorpos de ligação de CD3 são fornecidas na Tabela 2.

TABELA 2

Nome	Sequências CDR de CD3 Ab	SEQ ID NO:
SP34L1	RSSTGAVTTSNYAN	SEQ ID NO: 149
SP34L2	GTNKRAP	SEQ ID NO: 5
SP34L3	ALWYSNLWV	SEQ ID NO: 6
SP34H1	TYAMN	SEQ ID NO: 7

Nome	Sequências CDR de CD3 Ab	SEQ ID NO:
SP34H2	RIRSKYNNYATYYADSVKD	SEQ ID NO: 8
SP34H3	HGNFGNSYVSWFAY	SEQ ID NO: 9

[067] Conforme fornecido no presente documento, o anticorpo CD3 compreende pelo menos uma das sequências de CDR fornecidas na Tabela 2.

[068] Em algumas modalidades, o anticorpo CD3 compreende domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2.

[069] Em algumas modalidades, o anticorpo CD3 compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 3.

[070] Em algumas modalidades, o anticorpo CD3 compreende um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1.

[071] Em algumas modalidades, o anticorpo CD3 compreende um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 4.

[072] Em algumas modalidades, o anticorpo CD3 compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2 e um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1.

[073] Em algumas modalidades, o anticorpo CD3 compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 3 e um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1.

[074] Em algumas modalidades, o anticorpo CD3 compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 3 e um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 4.

[075] Em algumas modalidades, o anticorpo CD3 compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2 e um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 4.

[076] Em algumas modalidades, o anticorpo CD3 compreende

um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2 ou SEQ ID NO: 3 ou compreende um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 4.

[077] Em algumas modalidades, o anticorpo CD3 compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2 ou SEQ ID NO: 3 e compreende um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 4.

[078] Em algumas modalidades, o anticorpo CD3 é um anticorpo scFv. Em algumas modalidades, os domínios variáveis compreendem a seguinte estrutura da terminação N à terminação C: LV—HV. Em algumas modalidades, os domínios variáveis compreendem a seguinte estrutura da terminação N à terminação C: HV—LV.

[079] Em algumas modalidades, o anticorpo CD3 é um anticorpo scFv que compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) ligada a uma região variável de cadeia leve (VL), em que a VH é ligada à VL por um ligante que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO: 98. As sequências exemplificadoras com tal ligante são fornecidas na Tabela 1.

[080] Em modalidades exemplificadoras, é fornecido no presente documento um anticorpo que se liga especificamente a CD3 (AB), em que o anticorpo é um anticorpo IgG1 ou um scFv ligado a um domínio Fc, em que o anticorpo compreende uma região Fc que compreende uma substituição de aminoácido em pelo menos uma das posições de aminoácido L234, L235 e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o anticorpo tenha função efetora reduzida. Em algumas modalidades, a substituição de aminoácido é qualquer uma ou mais de L234F, L235E e P331S. Em algumas modalidades, o anticorpo compreende substituições de aminoácido em pelo menos duas das posições de aminoácido L234, L235 e P331. Em algumas modalidades, o anticorpo compreende substituições de aminoácido nas posições de aminoácido L234, L235 e P331. Em algumas modalidades, o anticorpo compreende substituições de

aminoácido L234F, L235E e P331S. Em algumas modalidades, o anticorpo compreende uma região Fc que compreende uma substituição de aminoácido em N297. Em algumas modalidades, a região Fc compreende uma mutação N297Q. Em algumas modalidades, o anticorpo compreende substituições de aminoácido L234F, L235E, P331S e N297Q. Em algumas modalidades, o domínio variável de cadeia pesada do anticorpo compreende qualquer uma das SEQ ID NO: 2 ou SEQ ID NO: 3 ou em que o domínio variável de cadeia leve do AB compreende qualquer uma das SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 4.

2. ANTICORPOS CD3 ATIVÁVEIS

[081] Em algumas modalidades, qualquer um dos anticorpos CD3 é fornecido no presente documento num formato de anticorpo ativável (AA).

[082] Conforme geralmente fornecido no presente documento, os AAs da invenção compreendem construtos de MM-CM, também denominados no presente documento como um pró-domínio. Consequentemente, conforme usado no presente documento, o termo “pró-domínio” se refere a um polipeptídeo que compreende uma porção química de mascaramento (MM) e uma porção química clivável (CM). Em algumas modalidades, a MM e a CM são separadas por um ligante, denominado no presente documento como L1. Em algumas modalidades, o pró-domínio compreende um ligante na terminação carboxila da CM; este ligante, denominado no presente documento como L2, liga a CM do pró-domínio ao AB. Em algumas modalidades, o pró-domínio compreende um ligante entre MM e CM e um ligante após CM. Em algumas modalidades, a MM e a CM não são separadas por um ligante. Em certas modalidades, um pró-domínio compreende uma das seguintes fórmulas (em que a fórmula abaixo representa uma sequência de aminoácidos na direção N- a C-terminal ou direção C- a N-terminal): (MM)-L1-(CM), (MM)-(CM)-L2, (MM)-L1-(CM)-L2 ou (MM)-(CM). Em modalidades exemplificadoras, um pró-domínio compreende uma MM de EGFR e uma CM clivável por uma matriptase ou MMP; ou uma MM de CD3ε MM e uma CM clivável por uma

matriptase ou MMP. Em algumas modalidades, um pró-domínio compreende uma MM de EGFR e uma CM que é clivável por uma matriptase e uma MMP. Em algumas modalidades, um pró-domínio compreende uma MM de CD3 ϵ e uma CM que é clivável por uma matriptase e uma MMP. São fornecidos no presente documento anticorpos ativáveis (AAs) que compreendem um pró-domínio. Também são fornecidos no presente documento nucleotídeos que codificam um pró-domínio da invenção.

[083] Conseqüentemente, é fornecido no presente documento um CD3 AA que compreende: (a) um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo (AB) que se liga especificamente à cadeia épsilon de CD3 (CD3 ϵ), em que o anticorpo compreende um domínio de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2 ou SEQ ID NO: 3 ou compreende um domínio de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 4; (b) uma porção química de mascaramento (MM) acoplada ao AB, em que a MM reduz ou inibe a ligação do AB ao CD3 ϵ quando o AA está num estado não clivado; e (c) uma porção química clivável (CM) acoplada ao AB, em que a CM é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma protease. Conforme descrito acima, (b) e (c) em conjunto são parte do pró-domínio.

[084] Em algumas modalidades, o AB do CD3 AA é qualquer um dos anticorpos CD3 descritos na seção anterior.

[085] Em algumas modalidades, o AB do CD3 AA compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2.

[086] Em algumas modalidades, o AB do CD3 AA compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 3.

[087] Em algumas modalidades, o AB do CD3 AA compreende um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1.

[088] Em algumas modalidades, o AB do CD3 AA compreende um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 4.

[089] Em algumas modalidades, o AB do CD3 AA compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2 e um domínio de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1.

[090] Em algumas modalidades, o AB do CD3 AA compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 3 e um domínio de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1.

[091] Em algumas modalidades, o AB do CD3 AA compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 3 e um domínio de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 4.

[092] Em algumas modalidades, o AB é um scFv que compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) ligada a uma região variável de cadeia leve (VL), em que a VH é ligada à VL por um ligante L3 que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO: 98. As sequências exemplificadoras com tal ligante são fornecidas na Tabela 1.

[093] Em algumas modalidades, a MM do CD3 AA compreende qualquer uma das sequências apresentadas na Tabela 3.

[094] As porções químicas de mascaramento de CD3 (MMs) exemplificadoras da invenção são fornecidas na Tabela 3.

[095] Em algumas modalidades, a MM do CD3 AA compreende a sequência apresentada na SEQ ID NO: 12. Em algumas modalidades, a MM do CD3 AA é a sequência apresentada na SEQ ID NO: 10. Em algumas modalidades, a MM do CD3 AA é a sequência apresentada na SEQ ID NO: 11.

TABELA 3

MM	Nome	Sequência de AA	SEQ ID NO:
CD3 MM	JF15865	MMYCGGNEVLCGPRV	SEQ ID NO: 10
CD3 MM	JF15003	GYRWGCEWNCGGITT	SEQ ID NO: 11
CD3 MM	h20GG	GYLWGCEWNCGGITT	SEQ ID NO: 12

[096] Em algumas modalidades, a CM do CD3 AA compreende qualquer uma das sequências apresentadas na Tabela 4. As porções químicas cliváveis (CMs) exemplificadoras da invenção são fornecidas na Tabela 4.

[097] Em algumas modalidades, a CM de um AA da divulgação compreende qualquer uma das sequências apresentadas na Tabela 4-1.

TABELA 4

Nome de CM	Sequência de AA	SEQ ID NO:
0001	LSGRSDNH	SEQ ID NO: 13
0011	LSGRSDDH	SEQ ID NO: 14
2001	ISSGLLSGRSDNH	SEQ ID NO: 15
2008	ISSGLLSGRSDQH	SEQ ID NO: 16
2006	ISSGLLSGRSDDH	SEQ ID NO: 17

TABELA 4-1

Nome de CM	Sequência de AA	SEQ ID NO:
0001	LSGRSDNH	SEQ ID NO: 18
0002	LSGRSGNH	SEQ ID NO: 19
0003	TSTSGRSANPRG	SEQ ID NO: 20
1001	ISSGLLSS	SEQ ID NO: 21
1002	QNALRMA	SEQ ID NO: 22
1003	VHMPLGFLGP	SEQ ID NO: 23
1004	AVGLLAPP	SEQ ID NO: 24
0011	LSGRSDDH	SEQ ID NO: 25
0021	LSGRSDIH	SEQ ID NO: 26

Nome de CM	Sequência de AA	SEQ ID NO:
0031	LSGRSDQH	SEQ ID NO: 27
0041	LSGRSDTH	SEQ ID NO: 28
0051	LSGRSDYH	SEQ ID NO: 29
0061	LSGRSDNP	SEQ ID NO: 30
0071	LSGRSANP	SEQ ID NO: 31
0081	LSGRSANI	SEQ ID NO: 32
0091	LSGRSDNI	SEQ ID NO: 33
2001	ISSGLLSGRSDNH	SEQ ID NO: 34
2002	ISSGLLSGRSGNH	SEQ ID NO: 35
2003	ISSGLLSGRSANPRG	SEQ ID NO: 36
2005	AVGLLAPPSGRSANPRG	SEQ ID NO: 37
2006	ISSGLLSGRSDDH	SEQ ID NO: 38
2007	ISSGLLSGRSDIH	SEQ ID NO: 39
2008	ISSGLLSGRSDQH	SEQ ID NO: 40
2009	ISSGLLSGRSDTH	SEQ ID NO: 41
2010	ISSGLLSGRSDYH	SEQ ID NO: 42
2011	ISSGLLSGRSDNP	SEQ ID NO: 43
2012	ISSGLLSGRSANP	SEQ ID NO: 44
2013	ISSGLLSGRSANI	SEQ ID NO: 45
2014	ISSGLLSGRSDNI	SEQ ID NO: 46
3001	AVGLLAPPGGLSGRSDNH	SEQ ID NO: 47
3006	AVGLLAPPGGLSGRSDDH	SEQ ID NO: 48
3007	AVGLLAPPGGLSGRSDIH	SEQ ID NO: 49
3008	AVGLLAPPGGLSGRSDQH	SEQ ID NO: 50

Nome de CM	Sequência de AA	SEQ ID NO:
3009	AVGLLAPPGGLSGRSDTH	SEQ ID NO: 51
3010	AVGLLAPPGGLSGRSDYH	SEQ ID NO: 52
3011	AVGLLAPPGGLSGRSDNP	SEQ ID NO: 53
3012	AVGLLAPPGGLSGRSANP	SEQ ID NO: 54
3013	AVGLLAPPGGLSGRSANI	SEQ ID NO: 55
3014	AVGLLAPPGGLSGRSDNI	SEQ ID NO: 56

3. ANTICORPOS COM MUTAÇÕES FC

[098] São fornecidos no presente documento anticorpos IgG1 que têm mutações Fc ou fragmentos de anticorpo que contém domínios de ligação ao antígeno (por exemplo, scFv, Fab, F(ab')₂) ligado a um domínio Fc, em que o Fc exibe função efetora reduzida (denominada no presente documento como variantes de Fc). Qualquer um dos BAAs, AAs e anticorpos descritos no presente documento pode compreender qualquer variante de Fc divulgada no presente documento.

[099] Os anticorpos que compreendem estas mutações Fc resultam em função efetora reduzida, enquanto mantém a afinidade de ligação ao alvo. Conseqüentemente, são fornecidos no presente documento anticorpos que se ligam a um alvo de interesse, em que o anticorpo é um anticorpo IgG1 ou um fragmento de anticorpo ligado a um Fc, em que a região Fc compreende uma substituição de aminoácido em pelo menos uma das posições de aminoácido L234, L235 e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o anticorpo tenha função efetora reduzida. Em algumas modalidades, a substituição de aminoácido é qualquer uma ou mais de L234F, L235E e P331S. Em algumas modalidades, existe uma mutação adicional em N297. Em algumas modalidades, a substituição de aminoácido é N297Q ou N297A.

[0100] Em algumas modalidades, o Fc é selecionado a partir das sequências de Fc apresentadas na Tabela 4-2. Em algumas modalidades, o Fc é selecionado a partir de SEQ ID NO: 154, SEQ ID NO:156, SEQ ID NO: SEQ ID NO:158 e SEQ ID NO:160, em que o X é selecionado do grupo que consiste em qualquer aminoácido de ocorrência natural (por exemplo, alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, glutamina, ácido glutâmico, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, pirrolisina, selenocisteína, serina, treonina, triptofano, tirosina, valina) ou qualquer aminoácido de ocorrência não natural (por exemplo, trans-3-metilprolina, 2,4-metanoprolina, cis-4-hidroxioprolina, trans-4-hidroxioprolina, N-metilglicina, alo-treonina, metiltreonina, hidroxietilcisteína, hidroxietil-homocisteína, nitroglutamina, homoglutamina, ácido piperídico, terc-leucina, norvalina, 2-azafenilalanina, 3-azafenilalanina, 4-azafenilalanina e 4-fluorofenilalanina).

TABELA 4-2

Nome SEQ ID NO:	Sequência de AA
Fc-N297X (SEQ ID NO: 154)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYXSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Nome SEQ ID NO:	Sequência de AA
Fc-N297Q (SEQ ID NO: 155)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
Fc-L234X (SEQ ID NO: 156)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEXLLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Nome SEQ ID NO:	Sequência de AA
Fc-L234F (SEQ ID NO: 157)	QVQLKQSGPGLVQPSQSL SITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGK GLEWLGVIWSSGGNTDYNTPFTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQ SQDTAIYYCARALTYDYEFAYWGQGTLTVS(S/A)ASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
Fc-L235X (SEQ ID NO: 158)	QVQLKQSGPGLVQPSQSL SITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGK GLEWLGVIWSSGGNTDYNTPFTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQ SQDTAIYYCARALTYDYEFAYWGQGTLTVS(S/A)ASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELXGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK

Nome SEQ ID NO:	Sequência de AA
Fc-L235E (SEQ ID NO: 159)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELEGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
Fc-P331X (SEQ ID NO: 160)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAXIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
Fc-P331S (SEQ ID NO: 161)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Nome SEQ ID NO:	Sequência de AA
Fc-Fcmt3 (SEQ ID NO: 162)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
C225v5Fcmt4 HC (SEQ ID NO: 163)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0101] Os anticorpos, AAs, anticorpos biespecíficos e BAAs que compreendem estas mutações Fc são fornecidos no presente documento.

[0102] Em algumas modalidades, tais AAs e BAAs que contêm variante de Fc podem se ligar a uma célula efetora imune. Em algumas modalidades, podem se ligar a um alvo seletivamente situado numa célula efetora imune. Em algumas modalidades, podem se ligar a CD3. Em algumas modalidades, podem se ligar a qualquer alvo listado na Tabela 9. Em algumas modalidades, podem se ligar a EGFR.

[0103] Conseqüentemente, em algumas modalidades, é fornecido no presente documento um anticorpo ativável (AA) que compreende:

a) um anticorpo (AB) que se liga especificamente a um alvo, em que o anticorpo é um anticorpo IgG1 e em que a região Fc do anticorpo compreende uma substituição de aminoácido em pelo menos uma das posições de aminoácido L234, L235 e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o AA tenha função efetora reduzida;

b) uma porção química de mascaramento (MM) acoplada ao AB, em que a MM reduz ou inibe a ligação do AB ao alvo quando o AA é num estado não clivado; e

c) uma porção química clivável (CM) acoplada ao AB, em que a CM é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma protease.

[0104] Em algumas modalidades, a região Fc compreende substituições de aminoácido pelo menos nas posições de aminoácido L234, L235, N297 e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o AA tenha função efetora reduzida. Em algumas modalidades, o alvo é selecionado do grupo que consiste nos alvos apresentados na Tabela 9.

[0105] Em algumas modalidades, é fornecido no presente documento um anticorpo ativável biespecífico (BAA) que compreende:

a) um anticorpo IgG (AB1) que se liga especificamente a um primeiro alvo, em que o AB1 compreende:

i. duas cadeias pesadas (HCs de AB1) e duas cadeias leves (LCs de AB1); e

ii. uma primeira porção química de mascaramento (MM1) ligada a uma primeira porção química clivável (CM1) para formar um construto MM1-CM1, em que a terminação carboxila de um construto MM1-CM1 é ligada a cada terminação amino de cada cadeia leve do AB1, em que

a MM1 inibe a ligação do AB1 ao seu alvo; e

a CM1 é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma primeira protease,

b) dois scFvs (AB2) que se ligam, cada um, especificamente a um segundo alvo, em que cada AB2 compreende:

i. uma região variável de cadeia pesada ligada a uma região variável de cadeia leve, em que a terminação carboxila de cada AB2 é ligada à terminação amino de cada uma das cadeias pesadas de AB1; e

ii. uma segunda porção química de mascaramento (MM2) ligada a uma segunda porção química clivável (CM2) para formar um construto MM2-CM2, em que a terminação carboxila de um construto MM2-CM2 é ligada à terminação amino de cada AB2 em que

a MM2 inibe a ligação do AB2 ao seu alvo; e

a CM2 é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma segunda protease,

[0106] e em que o AB1 compreende uma região Fc que compreende uma substituição de aminoácido em pelo menos uma das posições de aminoácido L234, L235, N297, e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o BAA tenha função efetora reduzida.

[0107] Em algumas modalidades fornecidas no presente documento, os BAAs fornecidos no presente documento compreendem:

a) Um anticorpo ativável biespecífico (BAA) que compreende:

i) um anticorpo de IgG (AB1) que se liga especificamente a um primeiro alvo em que o AB1 compreende duas cadeias pesadas (HCs de AB1) e duas cadeias leves (LCs de AB1); e em que o AB1 é ligado a uma primeira porção química de mascaramento (MM1) ligada a uma primeira porção química clivável (CM1) para formar um construto MM1-CM1, em que a terminação carboxila de um construto MM1-CM1 é ligada a cada terminação amino de cada cadeia leve do AB1, em que

a MM1 inibe a ligação do AB1 ao seu alvo; e

a CM1 é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma primeira protease,

ii) dois scFvs (cada um AB2) que se ligam, cada um, especificamente a um segundo alvo, em que cada AB2 compreende uma região variável de cadeia pesada ligada a uma região variável de cadeia leve, em que a terminação carboxila de cada AB2 é ligada à terminação amino de cada uma das cadeias pesadas de AB1; e em que cada AB2 é ligado a uma segunda porção química de mascaramento (MM2) ligada a uma segunda porção química clivável (CM2) para formar um construto MM2-CM2, em que a terminação carboxila de cada construto MM2-CM2 é ligada à terminação amino de cada AB2, em que

a MM2 inibe a ligação do AB2 ao seu alvo; e

a CM2 é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma segunda protease,

[0108] e em que o AB1 compreende uma região Fc que compreende uma substituição de aminoácido em pelo menos uma das posições de aminoácido L234, L235, N297, e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o BAA tenha função efetora reduzida.

4. ANTICORPOS EGFR

[0109] São fornecidos no presente documento anticorpos ou fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos (AB) que se ligam especificamente a EGFR. As sequências de CDR exemplificadoras de anticorpos de ligação de EGFR são fornecidas na Tabela 5.

[0110] São fornecidos no presente documento anticorpos EGFR, anticorpos biespecíficos com um braço que alveja EGFR, AAs capaz de se ligar a EGFR mediante ativação e BAAs capazes de se ligar a EGFR mediante ativação. Em algumas modalidades, o anticorpo EGFR compreende as CDRs da Tabela 5.

[0111] Em algumas modalidades, *por exemplo*, num formato de

BAA, são fornecidos no presente documento anticorpos IgG1 que se ligam especificamente ao receptor de fator de crescimento epidérmico (EGFR) e conferem função efetora reduzida. Os anticorpos compreendem mutações Fc que resultam em função efetora reduzida, enquanto mantém a afinidade de ligação de EGFR. Consequentemente, são fornecidos no presente documento anticorpos que se ligam a EGFR, em que o anticorpo é um anticorpo IgG1, em que o anticorpo compreende uma região Fc que compreende uma substituição de aminoácido em pelo menos uma das posições de aminoácido L234, L235 e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o anticorpo tenha função efetora reduzida. Em algumas modalidades, a substituição de aminoácido é qualquer uma ou mais de L234F, L235E e P331S.

[0112] Em algumas modalidades, o anticorpo compreende substituições de aminoácido em pelo menos duas das posições de aminoácido L234, L235 e P331.

[0113] Em algumas modalidades, o anticorpo compreende substituições de aminoácido nas posições de aminoácido L234, L235 e P331.

[0114] Em algumas modalidades, o anticorpo compreende substituições de aminoácido L234F, L235E e P331S.

[0115] Em algumas modalidades, o anticorpo compreende uma região Fc que compreende uma substituição de aminoácido em N297 juntamente com uma substituição de aminoácido em pelo menos uma das posições de aminoácido L234, L235 e/ou P331. Em algumas modalidades, a região Fc compreende uma mutação N297Q. Em algumas modalidades, a região Fc compreende uma mutação N297A.

[0116] Em algumas modalidades, o anticorpo compreende substituições L234F, L235E, P331S e N297Q. Em algumas modalidades, o anticorpo compreende substituições L234F, L235E, P331S e N297A.

[0117] As sequências de CDR exemplificadoras de anticorpos de ligação de EGFR são fornecidas na Tabela 5, apresentada em Kabat.

TABELA 5

Nome	Sequência	SEQ ID NO:
C225L1	RASQSIGTNIH	SEQ ID NO: 57
C225L2	YASESIS	SEQ ID NO: 58
C225L3	QQNNNWPTT	SEQ ID NO: 59
C225H1	NYGVH	SEQ ID NO: 60
C225H2	VIWSSGGNTDYNTPFST	SEQ ID NO: 61
C225H3	ALTYDYEFAY	SEQ ID NO: 62

[0118] As sequências de aminoácidos exemplificadoras de anticorpos de ligação de EGFR são fornecidas na Tabela 6. (VL e VH denotam as cadeias pesada variável e leve variável, respectivamente; LC e HC denotam as cadeias pesada e leve, respectivamente).

[0119] Em algumas modalidades, os anticorpos EGFR compreendem qualquer uma das sequências fornecidas na Tabela 6.

[0120] Em algumas modalidades, a cadeia pesada do anticorpo EGFR compreende qualquer uma das sequências apresentadas na SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75 e SEQ ID NO: 76, conforme apresentado na Tabela 6. Em algumas modalidades, o anticorpo EGFR de cadeia pesada compreende qualquer uma das sequências apresentadas na SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71 e SEQ ID NO: 73, em que X é selecionado a partir de qualquer aminoácido de ocorrência natural (por exemplo, alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, glutamina, ácido glutâmico, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, pirrolisina, selenocisteína, serina, treonina, triptofano, tirosina, valina) ou qualquer aminoácido de ocorrência não natural (por exemplo, trans-3-metilprolina, 2,4-metanoprolina, cis-4-hidroxiprolina, trans-4-hidroxiprolina, N-metilglicina, alo-treonina, metiltreonina, hidroxietilcisteína,

hidroxietil-homocisteína, nitroglutamina, homoglutamina, ácido pipecólico, terc-leucina, norvalina, 2-azafenilalanina, 3-azafenilalanina, 4-azafenilalanina e 4-fluorofenilalanina). A notação Fcmt3 compreende uma mutação pontual tripla, em que a região Fc da cadeia pesada do anticorpo de EGFR compreende as três seguintes mutações pontuais: L234F, L235E e P331S. Consequentemente, em algumas modalidades, o anticorpo EGFR compreende uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO: C225v5Fcmt3 HC. Em algumas modalidades, a região Fc da cadeia pesada do anticorpo EGFR compreende uma quarta mutação pontual, N297Q. A notação Fcmt4 compreende a mutação pontual tripla Fcmt3 e a quarta mutação pontual, N297Q. Consequentemente, em tais modalidades, o anticorpo EGFR compreende uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO: 76.

TABELA 6

Nome SEQ ID NO:	Sequência de AA
C225v5-VL (SEQ ID NO: 63)	QILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHWYQQRTNGSPR LLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFLSINSVESEDIADYYCQQN NNWPTTFGAGTKLELK
C225v5-VH (SEQ ID NO: 64)	QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGK GLEWLGVIWSSGNTDYNTPTFTSRLSINKDNSKSKVFFKMNSLQ SQDTAIYYCARALTYDYEFAYWGQGLVTVS(S/A)

Nome SEQ ID NO:	Sequência de AA
C225v5 LC (SEQ ID NO: 65)	<p>QILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHWYQQRTNGSPR LLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQN NNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDESTYLSST LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</p>
C225v5 HC (SEQ ID NO: 66)	<p>QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGK GLEWLGVIWSSGNTDYNTPTTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQ SQDTAIYYCARALTYDYEFAYWGQGLVTVS(S/A)ASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSGSSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVDFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK</p>

Nome SEQ ID NO:	Sequência de AA
C225v5N2 97X HC (SEQ ID NO: 67)	QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGK GLEWLGVIWSSGNTDYNTPTFTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQ SQDTAIYYCARALTYDYEFAYWGQGTLVTVS(S/A)ASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYXSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVDFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
C225v5N2 97Q HC (SEQ ID NO: 68)	QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGK GLEWLGVIWSSGNTDYNTPTFTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQ SQDTAIYYCARALTYDYEFAYWGQGTLVTVS(S/A)ASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVDFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK

Nome SEQ ID NO:	Sequência de AA
C225v5 L234X HC (SEQ ID NO: 69)	<p>QVQLKQSGPGLVQPSQSL SITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGK GLEWLGVIWSSGGNTDYNT PFTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQ SQDTAIYYCARALTYDYEFAYWGQGTLVTVS(S/A)ASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKV DK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEX LGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTP EVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
C225v5 L234F HC (SEQ ID NO: 70)	<p>QVQLKQSGPGLVQPSQSL SITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGK GLEWLGVIWSSGGNTDYNT PFTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQ SQDTAIYYCARALTYDYEFAYWGQGTLVTVS(S/A)ASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKV DK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTP EVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK</p>

Nome	
SEQ ID	Sequência de AA
NO:	
C225v5 L235X HC (SEQ ID NO: 71)	<p>QVQLKQSGPGLVQPSQSL SITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGK GLEWLGVIWSSGNTDYNT PFTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQ SQDTAIYYCARALTYDYEFAYWGQGTLVTVS(S/A)ASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKV DK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELXGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
C225v5 L235E HC (SEQ ID NO: 72)	<p>QVQLKQSGPGLVQPSQSL SITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGK GLEWLGVIWSSGNTDYNT PFTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQ SQDTAIYYCARALTYDYEFAYWGQGTLVTVS(S/A)ASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKV DK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELEGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK</p>

Nome	
SEQ ID	Sequência de AA
NO:	
C225v5 P331X HC (SEQ ID NO: 73)	<p>QVQLKQSGPGLVQPSQSL SITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGK GLEWLGVIWSSGGNTDYNT PFTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQ SQDTAIYYCARALTYDYEFAYWGQGTLVTVS(S/A)ASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKV DK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT P EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAXIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
C225v5 P331S HC (SEQ ID NO: 74)	<p>QVQLKQSGPGLVQPSQSL SITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGK GLEWLGVIWSSGGNTDYNT PFTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQ SQDTAIYYCARALTYDYEFAYWGQGTLVTVS(S/A)ASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKV DK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT P EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK</p>

Nome SEQ ID NO:	Sequência de AA
C225v5Fc mt3 HC (SEQ ID NO: 75)	<p>QVQLKQSGPGLVQPSQSL SITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGK GLEWLGVIWSSGGNTDYNT PFTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQ SQDTAIYYCARALTYDYEFAYWGQGTLVTVS(S/A)ASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKV DK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT P EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP ASIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
C225v5Fc mt4 HC (SEQ ID NO: 76)	<p>QVQLKQSGPGLVQPSQSL SITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGK GLEWLGVIWSSGGNTDYNT PFTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQ SQDTAIYYCARALTYDYEFAYWGQGTLVTVS(S/A)ASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKV DK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT P EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP ASIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK</p>

Nome	
SEQ ID	Sequência de AA
NO:	
SynFcmt4 HC (SEQ ID NO: 77)	<p>QVTLRESGPALVKPTQTLTLCTFSGFSLSTSGMSVGVIRQPPG KALEWLADIWWDDKKDYNPSLKSRLTISKDTSKNQVVLKVTNMD PADTATYYCARSMITNWFYDVGAGTTVTVS(S/A)ASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK</p>

5. ANTICORPOS EGFR ATIVÁVEIS

[0121] Em algumas modalidades, qualquer um dos anticorpos EGFR é fornecido no presente documento num formato AA (AAs de EGFR). Conforme descrito acima para os AAs de CD3, os AAs de EGFR compreendem também um pró-domínio.

[0122] Consequentemente, são fornecidos no presente documento AAs que compreendem anticorpos ou fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos (AB) que se ligam especificamente a EGFR. As sequências de CDR exemplificadoras de anticorpos de ligação de EGFR são fornecidas na Tabela 5.

[0123] Em algumas modalidades, o AA compreende: (a) qualquer anticorpo ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo (AB) que se liga especificamente ao receptor de fator de crescimento epidérmico (EGFR); (b) e um pró-domínio, em que o pró-domínio compreende (i) uma porção química de

mascaramento (MM) acoplada ao AB, em que a MM reduz ou inibe a ligação do AB ao EGFR quando o AA está num estado não clivado e em que a MM compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em sequências apresentadas na Tabela 7; e (ii) uma porção química clivável (CM) acoplada ao AB, em que a CM é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma protease.

[0124] As porções químicas de mascaramento de EGFR (MMs) exemplificadoras da invenção são fornecidas na Tabela 7 e Tabela 8.

TABELA 7

MM	Nome	Sequência de AA	SEQ ID NO:
EGFR MM	CF41	LSCEGWAMNREQCRA	SEQ ID NO: 78
EGFR MM	CF08	PPLECNTKSMCSKHD	SEQ ID NO: 79
EGFR MM	CF13	DRDCRGRRARCQQEG	SEQ ID NO: 80
EGFR MM	CF19	FTCEGWAMNREQCRT	SEQ ID NO: 81
EGFR MM	CF22	GRCPPSRDIRFCTYM	SEQ ID NO: 82
EGFR MM	CF46	FSCEGWAMNRSQCRT	SEQ ID NO: 83
EGFR MM	CF48	FTCEGWAMNRDQCRT	SEQ ID NO: 84

TABELA 8

MM	Nome	Sequência de AA	SEQ ID NO:
EGFR MM	3954	CISPRGCPDGPYVMY	SEQ ID NO: 85
EGFR MM	3954a	CISPRGCPDGPYVM	SEQ ID NO: 86
EGFR MM	3960	CISPRGC	SEQ ID NO: 87

[0125] Em algumas modalidades, a MM do AA de EGFR

compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 78. Em algumas modalidades, a MM do AA de EGFR compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 85.

[0126] Em algumas modalidades, a CM do AA de EGFR compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em sequências apresentadas na Tabela 4. Em algumas modalidades, a CM compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 14. Em algumas modalidades, a CM compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 16.

[0127] Em algumas modalidades, é fornecido no presente documento um anticorpo ativável (AA) que compreende: (a) um anticorpo que se liga especificamente ao receptor de fator de crescimento epidérmico (EGFR), em que o anticorpo é um anticorpo IgG1 e em que a região Fc do anticorpo compreende uma substituição de aminoácido em pelo menos uma das posições de aminoácido L234, L235 e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o AA tenha função efetora reduzida; (b) uma porção química de mascaramento (MM) acoplada ao AB, em que a MM reduz ou inibe a ligação do AB ao EGFR quando o AA está num estado não clivado; e (c) uma porção química clivável (CM) acoplada ao AB, em que a CM é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma protease. Os anticorpos EGFR IgG1 podem ser qualquer um dos anticorpos IgG1 descritos na seção imediatamente anterior. Em algumas modalidades, a MM compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em sequências apresentadas na Tabela 7.

[0128] Numa modalidade exemplificadora, é fornecido no presente documento um anticorpo ativável (AA) que compreende: (a) um anticorpo (AB) que se liga especificamente ao receptor de fator de crescimento epidérmico (EGFR), em que o AB é um anticorpo IgG1, e em que a região Fc do AB compreende uma substituição de aminoácido em pelo menos uma das posições de aminoácido L234, L235 e P331, conforme numerado pelo índice

EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o AA tenha função efetora reduzida; (b) uma porção química de mascaramento (MM) acoplada ao AB, em que a MM reduz ou inibe a ligação do AB ao EGFR quando o AA está num estado não clivado; e (c) uma porção química clivável (CM) acoplada ao AB, em que a CM é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma protease. Em algumas modalidades, a substituição de aminoácido é qualquer uma ou mais de L234F, L235E e P331S. Em algumas modalidades, o AB compreende substituições de aminoácido em pelo menos duas das posições de aminoácido L234, L235 e P331. Em algumas modalidades, o AB compreende substituições de aminoácido nas posições de aminoácido L234, L235 e P331. Em algumas modalidades, o AB compreende substituições de aminoácido L234F, L235E e P331S. Em algumas modalidades, o AB compreende uma região Fc que compreende uma substituição de aminoácido em N297. Em algumas modalidades, a região Fc compreende uma mutação N297Q. Em algumas modalidades, o AB compreende L234F, L235E, P331S e N297Q substituições de aminoácido. Em algumas modalidades, a MM compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em sequências apresentadas na Tabela 7 ou Tabela 8. Em algumas modalidades, a MM compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 78. Em algumas modalidades, a MM compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 85. Em algumas modalidades, a CM compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em sequências apresentadas na Tabela 4. Em algumas modalidades, a CM compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 14. Em algumas modalidades, a CM compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 16. Em algumas modalidades, o AA é parte de um BAA.

6. ANTICORPOS ATIVÁVEIS BIESPECÍFICOS (BAAS)

[0129] São fornecidos no presente documento BAAs (AAs biespecíficos, BAAs), em que o referido BAA, quando ativado, se liga especificamente aos dois alvos (*por exemplo*, se liga a dois alvos diferentes, ou

se liga a dois epítomos diferentes no mesmo alvo) e pode compreender uma das estruturas exemplificadoras fornecidas nas Figuras 17 a 19.

[0130] Em algumas modalidades, o primeiro alvo é selecionado do grupo que consiste nos alvos apresentados na Tabela 9 e o segundo alvo é selecionado do grupo que consiste nos alvos apresentados na Tabela 9.

[0131] Conforme geralmente fornecido no presente documento e conforme descrito acima na seção que descreve AAs, os BAAs da invenção compreende construtos MM-CM, também denominados no presente documento como um pró-domínio. Consequentemente, conforme usado no presente documento, o termo “pró-domínio” se refere a um polipeptídeo que compreende uma porção química de mascaramento (MM) e uma porção química clivável (CM). Em algumas modalidades, a MM e a CM são separadas por um ligante, denominado no presente documento como L1. Em algumas modalidades, o pró-domínio compreende um ligante na terminação carboxila da CM; este ligante, denominado no presente documento como L2, liga a CM do pró-domínio ao AB. Em algumas modalidades, o pró-domínio compreende um ligante entre MM e CM e um ligante após CM. Em algumas modalidades, a MM e a CM não são separadas por um ligante. Em certas modalidades, um pró-domínio compreende uma das seguintes fórmulas (em que a fórmula abaixo representa uma sequência de aminoácidos na direção N- a C-terminal ou direção C- a N-terminal): (MM)-L1-(CM), (MM)-(CM)-L2, (MM)-L1-(CM)-L2 ou (MM)-(CM). Em modalidades exemplificadoras, um pró-domínio compreende uma MM de EGFR e uma CM clivável por uma matriptase ou MMP; ou uma MM de CD3 ϵ e uma CM clivável por uma matriptase ou MMP. Em algumas modalidades, um pró-domínio compreende uma MM de EGFR e uma CM que é clivável por uma matriptase e uma MMP. Em algumas modalidades, um pró-domínio compreende uma MM de CD3 ϵ e uma CM que é clivável por uma matriptase e uma MMP. São fornecidos no presente documento anticorpos ativáveis biespecíficos (BAAs) que compreendem um pró-domínio. Também são fornecidos no presente documento nucleotídeos que codificam um pró-

domínio da invenção.

[0132] Em algumas modalidades, é fornecido no presente documento um BAA, em que o referido BAA, quando ativado, se liga especificamente a dois alvos (*por exemplo*, dois alvos diferentes; ou dois epítomos diferentes no mesmo alvo) e em que o referido BAA, quando não ativado, compreende a seguinte estrutura:

a) um anticorpo IgG (AB1) que se liga especificamente a um primeiro alvo, em que o AB1 compreende:

i. duas cadeias pesadas (HCs de AB1) e duas cadeias leves (LCs de AB1); e

ii. uma primeira porção química de mascaramento (MM1) ligada a uma primeira porção química clivável (CM1) para formar um construto MM1-CM1, em que a terminação carboxila de um construto MM1-CM1 é ligada a cada terminação amino de cada cadeia leve do AB1, em que

1. a MM1 inibe a ligação do AB1 ao seu alvo; e

2. a CM1 é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma primeira protease,

b) dois scFvs (AB2) que se ligam, cada um, especificamente a um segundo alvo, em que cada AB2 compreende:

i. uma região variável de cadeia pesada ligada a uma região variável de cadeia leve, em que a terminação carboxila de cada AB2 é ligada à terminação amino de cada uma das cadeias pesadas de AB1; e

ii. uma segunda porção química de mascaramento (MM2) ligada a uma segunda porção química clivável (CM2) para formar um construto MM2-CM2, em que a terminação carboxila de um construto MM2-CM2 é ligada à terminação amino de cada AB2 em que

a MM2 inibe a ligação do AB2 ao seu alvo; e

a CM2 é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma segunda protease, e em que o BAA tem pelo menos uma das seguintes características:

- i. MM2 compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO: 12;
- ii. MM1 compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em sequências apresentadas na Tabela 7;
- iii. AB2 compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2 ou SEQ ID NO: 3 ou um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 4; e
- iv. AB1 compreende uma região Fc que compreende uma substituição de aminoácido em pelo menos uma das posições de aminoácido L234, L235, N297 e P331 ou L234, L235 e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o BAA tenha função efetora reduzida.

[0133] Em algumas modalidades, os BAAs fornecidos no presente documento compreendem:

1. Um anticorpo ativável biespecífico (BAA), em que o referido BAA, quando ativado, se liga especificamente a dois alvos e compreende a seguinte estrutura:

a. um anticorpo IgG (AB1) que se liga especificamente a um primeiro alvo, em que o AB1 compreende duas cadeias pesadas (HCs de AB1) e duas cadeias leves (LCs de AB1); e em que o AB1 é ligado a uma primeira porção química de mascaramento (MM1) ligada a uma primeira porção química clivável (CM1) para formar um construto MM1-CM1, em que a terminação carboxila de um construto MM1-CM1 é ligado a cada terminação amino de cada cadeia leve do AB1, em que

a MM1 inibe a ligação do AB1 ao seu alvo; e

a CM1 é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma primeira protease,

b. dois scFvs (cada um AB2) que se ligam, cada um, especificamente a um segundo alvo, em que cada AB2 compreende uma região variável de cadeia leve ligada a uma região variável de cadeia pesada,

em que a terminação carboxila de cada AB2 é ligado à terminação amino de cada uma das cadeias pesadas de AB1; e em que cada AB2 é ligado a uma segunda porção química de mascaramento (MM2) ligada a uma segunda porção química clivável (CM2) para formar um construto MM2-CM2, em que a terminação carboxila de cada construto MM2-CM2 é ligada à terminação amino de cada AB2, em que

a MM2 inibe a ligação do AB2 ao seu alvo; e

a CM2 é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma segunda protease, e em que o BAA tem pelo menos uma das seguintes características:

i. MM2 compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO: 12;

ii. MM1 compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em sequências apresentadas na Tabela 7;

iii. AB2 compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2 ou SEQ ID NO: 3 ou um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 4; e

iv. AB1 compreende uma região Fc que compreende uma substituição de aminoácido em pelo menos uma das posições de aminoácido L234, L235, N297 e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o BAA tenha função efetora reduzida.

[0134] Em algumas modalidades, os BAAs fornecidos no presente documento compreendem:

a) um anticorpo IgG (AB1) que se liga especificamente a um primeiro alvo, em que o AB1 compreende:

a. duas cadeias pesadas (HCs de AB1) e duas cadeias leves (LCs de AB1); e

b. uma primeira porção química de mascaramento (MM1) ligada a uma primeira porção química clivável (CM1) para formar um construto MM1-CM1, em que a terminação carboxila de um construto MM1-CM1 é ligada a

cada terminação amino de cada cadeia leve do AB1, em que

1. a MM1 inibe a ligação do AB1 ao seu alvo; e

2. a CM1 é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma primeira protease,

b) dois scFvs (AB2) que se ligam, cada um, especificamente a um segundo alvo, em que cada AB2 compreende:

a. uma região variável de cadeia pesada ligada a uma região variável de cadeia leve, em que a terminação carboxila de cada AB2 é ligada à terminação amino de cada uma das cadeias pesadas de AB1; e

b. uma segunda porção química de mascaramento (MM2) ligada a uma segunda porção química clivável (CM2) para formar um construto MM2-CM2, em que a terminação carboxila de um construto MM2-CM2 é ligada à terminação amino de cada AB2 em que

1. a MM2 inibe a ligação do AB2 ao seu alvo; e

2. a CM2 é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma segunda protease,

e em que o AB1 compreende uma região Fc que compreende uma substituição de aminoácido em pelo menos uma das posições de aminoácido L234, L235, N297, e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o BAA tenha função efetora reduzida. Em algumas modalidades, a região Fc compreende substituições de aminoácido pelo menos nas posições de aminoácido L234, L235, N297 e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o BAA tenha função efetora reduzida.

[0135] Em algumas modalidades, os BAAs fornecidos no presente documento compreendem:

(1) Um anticorpo ativável biespecífico (BAA) que compreende:

(a) um anticorpo IgG (AB1) que se liga especificamente a um primeiro alvo, em que o AB1 compreende duas cadeias pesadas (HCs de AB1) e duas cadeias leves (LCs de AB1); e em que o AB1 é ligado a uma primeira

porção química de mascaramento (MM1) ligada a uma primeira porção química clivável (CM1) para formar um construto MM1-CM1, em que a terminação carboxila de um construto MM1-CM1 é ligada a cada terminação amino de cada cadeia leve do AB1, em que

a MM1 inibe a ligação do AB1 ao seu alvo; e

a CM1 é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma primeira protease,

(b) dois scFvs (cada um AB2) que se ligam, cada um, especificamente a um segundo alvo, em que cada AB2 compreende uma região variável de cadeia pesada ligada a uma região variável de cadeia leve, em que a terminação carboxila de cada AB2 é ligada à terminação amino de cada uma das cadeias pesadas de AB1; e em que cada AB2 é ligado a uma segunda porção química de mascaramento (MM2) ligada a uma segunda porção química clivável (CM2) para formar um construto MM2-CM2, em que a terminação carboxila de cada construto MM2-CM2 é ligada à terminação amino de cada AB2, em que

a MM2 inibe a ligação do AB2 ao seu alvo; e

a CM2 é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma segunda protease,

e em que o AB1 compreende uma região Fc que compreende uma substituição de aminoácido em pelo menos uma das posições de aminoácido L234, L235, N297, e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o BAA tenha função efetora reduzida.

[0136] Conforme fornecido acima, os BAAs da invenção compreendem dois scFvs (AB2) que se ligam, cada um, especificamente a um segundo alvo. A VL e VH dos scFvs podem ser em qualquer ordem, VL-VH ou VH-VL.

[0137] Em algumas modalidades, a região Fc do AB1 compreende substituições de aminoácido em pelo menos posições de aminoácido L234, L235 e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em

Kabat, de modo que o BAA tenha função efetora reduzida. Em algumas modalidades, o primeiro alvo é selecionado do grupo que consiste nos alvos apresentados na Tabela 9 e o segundo alvo é selecionado do grupo que consiste nos alvos apresentados na Tabela 9.

[0138] Em algumas modalidades, o AB1 se liga a um antígeno alvo, *por exemplo*, um antígeno de tumor e o AB2 se liga a um alvo efetor imune.

[0139] Em algumas modalidades, o AB2 se liga a um antígeno alvo, *por exemplo*, um antígeno de tumor e o AB1 se liga a um alvo efetor imune.

[0140] Em algumas modalidades, o AB1 se liga a EGFR e o AB2 se liga a CD3.

[0141] Em algumas modalidades, a MM1 compreende SEQ ID NO: 78.

[0142] Em algumas modalidades, a MM2 compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO: 12.

[0143] Em algumas modalidades, o AA biespecífico é CI106, conforme fornecido na Tabela 11, no Exemplo 1.

[0144] Em algumas modalidades, o BAA é CI107, conforme fornecido na Tabela 11, no Exemplo 1.

[0145] Em algumas modalidades, o BAA é CI011, conforme fornecido na Tabela 11, no Exemplo 1.

[0146] Em algumas modalidades, o BAA é CI020, conforme fornecido na Tabela 11, no Exemplo 1.

[0147] Em algumas modalidades, o BAA é CI040, conforme fornecido na Tabela 11, no Exemplo 1.

[0148] Em algumas modalidades, o BAA é CI079, conforme fornecido na Tabela 11, no Exemplo 1.

[0149] Em algumas modalidades, o BAA é CI090, conforme fornecido na Tabela 11, no Exemplo 1.

[0150] numa modalidade exemplificadora, o AB1 compreende a sequência de aminoácidos de C225v5Fcmt3 HC ou C225v5Fcmt4 HC.

[0151] Em algumas modalidades, a primeira e a segunda proteases são a mesma protease. Em algumas modalidades, a primeira e a segunda proteases são proteases diferentes. Em algumas modalidades, CM1 e CM2 compreendem a mesma sequência de aminoácidos. Em algumas modalidades, CM1 e CM2 compreendem sequências de aminoácidos diferentes. Em algumas modalidades, CM1 e CM2 compreendem sequências de aminoácidos diferentes que são cliváveis pela mesma protease ou proteases. Em algumas modalidades, CM1 e CM2 são cliváveis por mais de uma protease. Em algumas modalidades, CM1 e/ou CM2 é clivável por uma serina protease. Em algumas modalidades, CM1 e/ou CM2 é clivável por uma matriz metaloproteinase (MMP). Em algumas modalidades, CM1 e/ou CM2 é clivável por uma serina protease e uma MMP.

[0152] Os BAAs exemplificadores da divulgação incluem, por exemplo, aqueles mostrados nos Exemplos fornecidos no presente documento e variantes dos mesmos.

[0153] Em algumas modalidades não limitantes, pelo menos um do AB no BAA é específico para CD3 e pelo menos um outro AB é um parceiro de ligação para qualquer alvo listado na Tabela 9.

[0154] Numa modalidade exemplificadora, o AB2 do BAA é específico para CD3 e AB1 é um parceiro de ligação para qualquer alvo listado na Tabela 9.

TABELA 9: ALVOS EXEMPLIFICADORES

1-92-LFA- 3	CD52	DL44	HVEM	LAG-3	STEAP1
Alfa-4 integrina	CD56	DLK1	Hialuronidase	LIF-R	STEAP2

Alfa-V integrina	CD64	DLL4	ICOS	Lewis X	TAG-72
alfa4beta1 integrina	CD70	DPP-4	IFNalfa	LIGHT	TAPA1
alfa4beta7 integrina	CD71	DSG1	IFNbeta	LRP4	TGFbeta
AGR2	CD74	EGFR	IFNgama	LRRC26	TIGIT
Anti-Lewis-Y		EGFRviii	IgE	MCSP	TIM-3
Receptor de Apelina J	CD80	Receptor de endotelina (ETBR)	Receptor B IgE (FceRI)	de Mesotelina	TLR2
APRIL	CD81	ENPP3	IGF	MRP4	TLR4
B7-H4	CD86	EpCAM	IGF1R	MUC1	TLR6
BAFF	CD95	EPHA2	IL1B	Mucina-16 (MUC16, CA-125)	TLR7
BTLA	CD117	EPHB2	IL1R	Na/K ATPase	TLR8
Complem ento C5	CD125	ERBB3	IL2	Elastase neutrófilo	de TLR9
C-242	CD132 (IL-2RG)	Proteína F de RSV	IL11	NGF	TMEM31
CA9	CD133	FAP	IL12	Nicastrina	TNFalfa
CA19-9 (Lewis a)	CD137	FGF-2	IL12p40	Receptores Notch	TNFR

Anidrase carbônica 9	CD138	FGF8	IL-12R, IL-12Rbeta1	Notch 1	TNFRS12 A
CD2	CD166	FGFR1	IL13	Notch 2	TRAIL-R1
CD3	CD172A	FGFR2	IL13R	Notch 3	TRAIL-R2
CD6	CD248	FGFR3	IL15	Notch 4	Transferri na
CD9	CDH6	FGFR4	IL17	NOV	Receptor de transferrin a
CD11a	CEACAM5 (CEA)	Receptor de folato	de IL18	OSM-R	TRK-A
CD19	CEACAM6 (NCA-90)	GAL3ST1	IL21	OX-40	TRK-B
CD20	CLAUDIN-3	G-CSF	IL23	PAR2	uPAR
CD22	CLAUDIN-4	G-CSFR	IL23R	PDGF-AA	VAP1
CD24	cMet	GD2	IL27/IL27R (wsx1)	PDGF-BB	VCAM-1
CD25	Colágeno	GITR	IL29	PDGFRalfa	VEGF
CD27	Cripto	GLUT1	IL-31R	PDGFRbeta	VEGF-A
CD28	CSFR	GLUT4	IL31/IL31R	PD-1	VEGF-B
CD30	CSFR-1	GM-CSF	IL2R	PD-L1	VEGF-C
CD33	CTLA-4	GM-CSFR	IL4	PD-L2	VEGF-D
CD38	CTGF	Receptores de GP IIb/IIIa	IL4R	Fosfatidil-serina	VEGFR1

CD40	CXCL10	Gp130	IL6, IL6R	P1GF	VEGFR2
CD40L	CXCL13	GPIIB/IIIA	Receptor de insulina	de PSCA	VEGFR3
CD41	CXCR1	GPNMB	Ligantes Jagged	PSMA	VISTA
CD44	CXCR2	GRP78	Jagged 1	RAAG12	WISP-1
CD44v6		HER2/neu	Jagged 2	RAGE	WISP-2
CD47	CXCR4	HGF		SLC44A4	WISP-3
CD51	CYR61	hGH		Esfingosina-1- fosfato	

[0155] Em algumas modalidades, o anticorpo biespecífico de EGFR-CD3 não mascarado exibe extermínio de célula de tumor dependente de EGFR, enquanto o BAA de EGFR-CD3 duplamente mascarado reduz a citotoxicidade dependente de alvo em mais de 100.000 vezes. Em modelos de tumor estabelecidos em que se espera que as proteases residentes em tumor estejam ativas, é mostrado que os BAAs induzem de modo potente regressões de tumor. Em primatas não humanos, a dose máxima tolerada (MTD) do BAA de EGFR-CD3 é mais de 60 vezes maior que a MTD do anticorpo biespecífico não mascarado e a exposição tolerada (AUC) é mais de 10.000 vezes maior. Apesar do diferencial de dose de 60 vezes nas MTDs, os aumentos transitórios de AST/ALT e citocina séria observados em primatas não humanos tratados com o BAA ainda são inferiores àqueles induzidos pelo anticorpo biespecífico. Mediante a localização da atividade no microambiente de tumor, os BAAs têm o potencial para expandir oportunidades clínicas para terapias biespecíficas de engate de célula T que são limitadas por toxicidades no alvo, especialmente em tumores sólidos. Ademais, um BAA de EGFR-CD3 tem o potencial para tratar de tumores que expressam EGFR que são insatisfatoriamente

responsivos a terapias dirigidas a EGFR existentes.

7. PORÇÕES QUÍMICAS CLIVÁVEIS (CM)

[0156] Tanto os AAs monoespecíficos como os BAAs da divulgação compreendem pelo menos uma CM, quando mascarados e não ativados.

[0157] Em algumas modalidades, a porção química clivável (CM) do AA ou BAA inclui uma sequência de aminoácidos que pode servir como um substrato para pelo menos uma protease, normalmente uma protease extracelular. No caso de um BAA, a CM pode ser selecionada com base numa protease que é colocalizada em tecido com o alvo desejado de pelo menos um AB do BAA ou AA. Uma CM pode servir como um substrato para múltiplas proteases, por exemplo, um substrato para uma serina protease e uma segunda protease diferente, por exemplo, uma MMP. Em algumas modalidades, uma CM pode servir como um substrato para mais de uma serina protease, por exemplo, uma matriptase e uPA. Em algumas modalidades, uma CM pode servir como um substrato para mais de uma MMP, por exemplo, uma MMP9 e uma MMP14.

[0158] Uma variedade de condições diferentes é conhecida, na qual um alvo de interesse é colocalizada com uma protease, em que o substrato da protease é conhecido na técnica. No exemplo de câncer, o tecido alvo pode ser um tecido canceroso, particularmente tecido canceroso de um tumor sólido. Existem relatórios na literatura de níveis aumentados de proteases em vários cânceres, por exemplo, tumores líquidos ou tumores sólidos. Consultar, por exemplo, La Rocca et al, (2004) British J. of Cancer 90(7): 1414-1421. Os exemplos não limitantes de doença incluem: todos os tipos de câncer, (como, porém sem limitação, mama, pulmão, colorretal, gástrico, glioblastoma, ovário, endometrial, renal, sarcoma, câncer de pele, cervical, fígado, bexiga, colangiocarcinoma, próstata, melanomas, câncer de cabeça e pescoço (por exemplo, câncer de célula escamosa de cabeça e pescoço, pancreático, etc.), artrite reumatoide, doença de Crohn, SLE, dano

cardiovascular, isquemia, etc. Por exemplo, as indicações incluiriam incluir leucemias, incluindo leucemia linfoblástica aguda de célula T (T-ALL), doenças linfoblásticas incluindo mieloma múltiplo e tumores sólidos, incluindo câncer de pulmão, colorretal, próstata, pancreático e mama, incluindo câncer de mama triplo negativo. Por exemplo, as indicações incluem doença óssea ou metástase em câncer, independentemente da origem de tumor primário; câncer de mama, incluindo, a título de exemplo não limitante, câncer de mama ER/PR+, câncer de mama Her2+, câncer de mama triplo negativo; câncer colorretal; câncer endometrial; câncer gástrico; glioblastoma; câncer de cabeça e pescoço, como câncer de célula escamosa de cabeça e pescoço; câncer esofágico; câncer de pulmão, como, a título de exemplo não limitante, câncer de pulmão de célula não pequena; mieloma múltiplo, câncer de ovário; câncer pancreático; câncer de próstata; sarcoma, como osteosarcoma; câncer renal, como, a título de exemplo não limitante, carcinoma de célula renal; e/ou câncer de pele, como, a título de exemplo não limitante, câncer de célula escamosa, carcinoma de célula basal ou melanoma. Em algumas modalidades, o câncer é um câncer de célula escamosa. Em algumas modalidades, o câncer é um carcinoma de célula escamosa de pele. Em algumas modalidades, o câncer é um carcinoma de célula escamosa esofágico. Em algumas modalidades, o câncer é um carcinoma de célula escamosa de cabeça e pescoço. Em algumas modalidades, o câncer é um carcinoma de célula escamosa de pulmão.

[0159] A CM é especificamente clivada por uma enzima numa taxa de cerca de 0,001 a $1500 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{S}^{-1}$ ou pelo menos 0,001, 0,005, 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1, 2,5, 5, 7,5, 10, 15, 20, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 200, 250, 500, 750, 1000, 1250 ou $1500 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{S}^{-1}$.

[0160] Para clivagem específica por uma enzima, o contato entre a enzima e a CM é feito. Quando o AA ou BAA compreende pelo menos um primeiro AB acoplado a uma MM e uma CM, por exemplo, o AA compreende um AB acoplado a uma MM através de uma CM, está na presença de alvo e atividade enzimática suficiente, a CM pode ser clivada. A atividade enzimática

suficiente pode se referir à capacidade da enzima para entrar em contato com a CM e efetuar a clivagem. Pode ser prontamente previsto que uma enzima pode estar na vizinhança da CM, mas é incapaz de clivar devido a outros fatores celulares ou à modificação de proteína da enzima.

[0161] As CMs exemplificadoras da divulgação são fornecidas na Tabela 4 acima. Em algumas modalidades, a CM tem um comprimento de até 15 aminoácidos, um comprimento de até 20 aminoácidos, um comprimento de até 25 aminoácidos, um comprimento de até 30 aminoácidos, um comprimento de até 35 aminoácidos, um comprimento de até 40 aminoácidos, um comprimento de até 45 aminoácidos, um comprimento de até 50 aminoácidos, um comprimento de até 60 aminoácidos, um comprimento na faixa de 10 a 60 aminoácidos, um comprimento na faixa de 15 a 60 aminoácidos, um comprimento na faixa de 20 a 60 aminoácidos, um comprimento na faixa de 25 a 60 aminoácidos, um comprimento na faixa de 30 a 60 aminoácidos, um comprimento na faixa de 35 a 60 aminoácidos, um comprimento na faixa de 40 a 50 aminoácidos, um comprimento na faixa de 45 a 60 aminoácidos, um comprimento na faixa de 10 a 40 aminoácidos, um comprimento na faixa de 15 a 40 aminoácidos, um comprimento na faixa de 20 a 40 aminoácidos, um comprimento na faixa de 25 a 40 aminoácidos, um comprimento na faixa de 30 a 40 aminoácidos, um comprimento na faixa de 35 a 40 aminoácidos, um comprimento na faixa de 10 a 30 aminoácidos, um comprimento na faixa de 15 a 30 aminoácidos, um comprimento na faixa de 20 a 30 aminoácidos, um comprimento na faixa de 25 a 30 aminoácidos, um comprimento na faixa de 10 a 20 aminoácidos ou um comprimento na faixa de 10 a 15 aminoácidos.

8. PORÇÕES QUÍMICAS DE MASCARAMENTO (MMS)

[0162] Tanto nos AAs de EGFR e CD3 monoespecíficos ativáveis como os BAAs descritos acima, os AAs/BAAs contém uma MM. Conforme descrito no presente documento, os AAs e BAAs da invenção compreendem um pró-domínio, que compreende uma MM.

[0163] Em algumas modalidades, a MM é selecionada para o uso

com um anticorpo específico ou fragmento de anticorpo.

[0164] Em certas modalidades, a MM não é um parceiro de ligação natural do AB. Em algumas modalidades, a MM contém nenhuma ou substancialmente nenhuma homologia com qualquer parceiro de ligação natural do AB. Em outras modalidades, a MM é não mais que 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75% ou 80% similar a qualquer parceiro de ligação natural do AB. Em algumas modalidades, a MM é não mais que 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75% ou 80% idêntica a qualquer parceiro de ligação natural do AB. Em algumas modalidades, a MM é não mais que 50% idêntica a qualquer parceiro de ligação natural do AB. Em algumas modalidades, a MM é não mais que 25% idêntica a qualquer parceiro de ligação natural do AB. Em algumas modalidades, a MM é não mais que 20% idêntica a qualquer parceiro de ligação natural do AB. Em algumas modalidades, a MM é não mais que 10% idêntica a qualquer parceiro de ligação natural do AB.

[0165] As MMs exemplificadoras da divulgação podem ter um comprimento de até 15 aminoácidos, um comprimento de até 20 aminoácidos, um comprimento de até 25 aminoácidos, um comprimento de até 30 aminoácidos, um comprimento de até 35 aminoácidos, um comprimento de até 40 aminoácidos, um comprimento de até 45 aminoácidos, um comprimento de até 50 aminoácidos, um comprimento de até 60 aminoácidos, um comprimento na faixa de 10 a 60 aminoácidos, um comprimento na faixa de 15 a 60 aminoácidos, um comprimento na faixa de 20 a 60 aminoácidos, um comprimento na faixa de 25 a 60 aminoácidos, um comprimento na faixa de 30 a 60 aminoácidos, um comprimento na faixa de 35 a 60 aminoácidos, um comprimento na faixa de 40 a 50 aminoácidos, um comprimento na faixa de 45 a 60 aminoácidos, um comprimento na faixa de 10 a 40 aminoácidos, um comprimento na faixa de 15 a 40 aminoácidos, um comprimento na faixa de 20 a 40 aminoácidos, um comprimento na faixa de 25 a 40 aminoácidos, um comprimento na faixa de 30 a 40 aminoácidos, um comprimento na faixa de 35

a 40 aminoácidos, um comprimento na faixa de 10 a 30 aminoácidos, um comprimento na faixa de 15 a 30 aminoácidos, um comprimento na faixa de 20 a 30 aminoácidos, um comprimento na faixa de 25 a 30 aminoácidos, um comprimento na faixa de 10 a 20 aminoácidos, um comprimento na faixa de 10 a 15 aminoácidos ou um comprimento de 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16,17,18, 19 ou 20 aminoácidos.

[0166] Conforme fornecido no presente documento, a MM inibe a ligação do AB ao alvo. A MM se liga ao domínio de ligação ao antígeno do AB e inibe a ligação do AB ao alvo. A MM pode inibir estericamente a ligação do AB ao alvo. A MM pode inibir alostericamente a ligação do AB ao seu alvo. Nestas modalidades, quando o AB é modificado por ou acoplado a uma MM e na presença do alvo, não há ligação ou substancialmente nenhuma ligação do AB ao alvo, ou não mais que 0,001%, 0,01%, 0,1%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40% ou 50% de ligação do AB ao alvo, em comparação com a ligação do AB não modificado por ou acoplado a uma MM, o AB parental, ou o AB não acoplado a uma MM ao alvo, por pelo menos 2, 4, 6, 8, 12, 28, 24, 30, 36, 48, 60, 72, 84 ou 96 horas, ou 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150 ou 180 dias, ou 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ou 12 meses ou mais tempo, quando medida in vivo ou num ensaio in vitro.

[0167] Quando um AB é acoplado a ou modificado com uma MM, a MM “mascara” ou reduz, ou de outro modo inibe a ligação específica do AB ao alvo. Quando um AB é acoplado a ou modificado por uma MM, tal acoplamento ou modificação pode efetuar uma alteração estrutural que reduz ou inibe a capacidade do AB para se ligar especificamente ao seu alvo.

[0168] As MMs exemplificadoras da divulgação são fornecidas nas Tabelas 3, 7 e 8, acima.

[0169] Em qualquer um dos AAs e BAAs fornecidos no presente documento, o AB mascarado tem uma afinidade de ligação inferior ao AB não mascarado.

9. LIGANTES

[0170] Em muitas modalidades, pode ser desejável inserir um ou mais ligantes, por exemplo, ligantes flexíveis, nos construtos de AA/BAA de modo a fornecer flexibilidade numa ou mais da junção MM-CM, da junção CM-AB/CM-scFv, ou ambas. Por exemplo, o AB, MM, e/ou CM podem não conter um número suficiente de resíduos (por exemplo, Gly, Ser, Asp, Asn, especialmente Gly e Ser) para fornecer a flexibilidade desejável. Como tal, a capacidade de tais construtos de BAA de permanecerem intactos (não ativados) ou serem ativados conforme revelado no presente documento pode se beneficiar da introdução de um ou mais aminoácidos para fornecer um ligante flexível.

[0171] Por exemplo, em certas modalidades, um AA compreende uma das seguintes fórmulas (em que a fórmula abaixo representa uma sequência de aminoácidos na direção N- a C-terminal ou C- a N-terminal):

(MM1)-L1-(CM1)-(AB1)

(MM1)-(CM1)-L2-(AB1)

(MM1)-L1-(CM1)-L2-(AB1)

(MM2)-L1-(CM2)-(AB2)

(MM2)-(CM2)-L2-(AB2)

(MM2)-L1-(CM2)-L2-(AB2)

em que MM, CM e AB são conforme definido acima; em que L1 e L2 são, cada um, independente e opcionalmente presentes ou ausentes, são os mesmos ou diferentes ligantes flexíveis que incluem pelo menos 1 aminoácido flexível (por exemplo, Gly, Ser).

[0172] Em algumas modalidades, o BAA compreende 2 cadeias pesadas, em que cada uma compreende a disposição estrutural da terminação N à terminação C de MM2-CM2-AB2-AB1 HC e duas cadeias leves, em que cada uma compreende a disposição estrutural da terminação N à terminação C de MM1-CM1-AB1 LC.

[0173] Em algumas modalidades, a estrutura que inclui ligantes é fornecida na Figura 17.

[0174] Em algumas modalidades, (MM2)-L1-(CM2)-L2-(AB2) é ligado à cadeia pesada de AB1 e AB2 é um scFv.

[0175] Os ligantes adequados para uso em composições descritas no presente documento são geralmente aqueles que fornecem a flexibilidade do AB modificado ou os AAs que facilitam a inibição da ligação do AB ao alvo. Tais ligantes são geralmente denominados ligantes flexíveis. Os ligantes adequados podem ser prontamente selecionados e podem ser de qualquer um de comprimentos diferentes, como de 1 aminoácido (por exemplo, Gly) a 20 aminoácidos, de 2 aminoácidos a 15 aminoácidos, de 3 aminoácidos a 12 aminoácidos, incluindo 4 aminoácidos a 10 aminoácidos, 5 aminoácidos a 9 aminoácidos, 6 aminoácidos a 8 aminoácidos, ou 7 aminoácidos a 8 aminoácidos, e pode ter 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, ou 20 aminoácidos em comprimento. Em algumas modalidades, um ligante adequado pode ter de 4 a 25 aminoácidos em comprimento. Em algumas modalidades, um ligante adequado pode ter de 5 a 25 aminoácidos em comprimento. Em algumas modalidades, um ligante adequado pode ter de 4 a 20 aminoácidos em comprimento. Em algumas modalidades, um ligante adequado pode ter de 5 a 20 aminoácidos em comprimento.

[0176] Os ligantes exemplificativos incluem polímeros de glicina (G)_n, polímeros de glicina-serina (incluindo, por exemplo, (GS)_n, (GSGGS)_n (SEQ ID NO: 88) e (GGGS)_n (SEQ ID NO: 89), em que n é um número inteiro de pelo menos um), polímeros de glicina-alanina, polímeros de alanina-serina, e outros ligantes flexíveis conhecidos na técnica. Em algumas modalidades, n é de cerca de 1 a cerca de 10, ou de cerca de 1 a cerca de 9, ou de cerca de 1 a cerca de 8, ou de cerca de 1 a cerca de 7, ou de cerca de 1 a cerca de 6, ou de cerca de 1 a cerca de 5, ou de cerca de 1 a cerca de 4, ou de cerca de 1 a cerca de 3, ou de cerca de 1 a cerca de 2. Glicina e polímeros de glicina-serina são relativamente não estruturados, e, portanto, podem ter capacidade para servir como uma corrente neutra entre componentes. A glicina acessa de modo significativo mais espaço phi-psi do que alanina, e é muito menos restrita do

que os resíduos com cadeias laterais mais longas (consultar Scheraga, Rev. Computational Chem. 11173-142 (1992)). Os ligantes exemplificativos são fornecidos na Tabela 9-1.

TABELA 9-1: LIGANTES L1 E L2 EXEMPLIFICATIVOS

SEQ ID NO:	Sequência de aminoácidos de ligante
SEQ ID NO: 88	GSGGS
SEQ ID NO: 89	GGGS
SEQ ID NO: 90	GGSG
SEQ ID NO: 91	GGSGG
SEQ ID NO: 92	GSGSG
SEQ ID NO: 93	GSGGG
SEQ ID NO: 94	GGGSG
SEQ ID NO: 95	GSSSG
SEQ ID NO: 96	GSSGGSGGSGG
SEQ ID NO: 97	GGGS
SEQ ID NO: 99	GGGGS
SEQ ID NO: 100	GSSGGSGGSGGSG
SEQ ID NO: 101	GSSGGSGGSGGGGGSGGGSGGGS
SEQ ID NO: 102	GSSGGSGGSGGSGGGSGGGSGGGS
SEQ ID NO: 103	GSSGT
SEQ ID NO: 104	GGGSSGGS

[0177] O indivíduo de habilidade comum na técnica reconhecerá que o projeto de um AA pode incluir ligantes que são total ou parcialmente flexíveis, de modo que o ligante pode incluir um ligante flexível, assim como uma ou mais porções que conferem estrutura menos flexível para fornecer uma estrutura de AA desejável.

10. CONJUGAÇÃO

[0178] Em algumas modalidades, qualquer um dos anticorpos, ou ABs dos AAs, e BAAs divulgados no presente documento pode ser conjugado com um agente. Em algumas modalidades, o agente é um agente terapêutico. Em algumas modalidades, o agente é uma porção química detectável. Em algumas modalidades, o agente é um agente antineoplásico. Em algumas modalidades, o agente é uma toxina ou fragmento do mesmo. Em algumas modalidades, o agente é conjugado com o AB por meio de um ligante. Em algumas modalidades, o ligante é um ligante não clivável. Em algumas modalidades, o agente é um inibidor de microtúbulo. Em algumas modalidades, o agente é um agente de danificação de ácido nucleico, como um alquilador de DNA ou intercalador de DNA, ou outro agente de danificação de DNA. Em algumas modalidades, o ligante é um ligante clivável. Em algumas modalidades, o agente é um agente selecionado do grupo listado na Tabela 10.

TABELA 10: AGENTES FARMACÊUTICOS EXEMPLIFICATIVOS PARA CONJUGAÇÃO

AGENTES CITOTÓXICOS

Auristatinas	Turbostatina
Auristatina E	Fenstatinas
Monometil auristatina D (MMAD)	Hidroxifenstatina
Monometil auristatina E (MMAE)	Espongistatina 5
Desmetil auristatina E (DMAE)	Espongistatina 7
Auristatina F	Halistatina 1
Monometil auristatina F (MMAF)	Halistatina 2
Desmetil auristatina F (DMAF)	Halistatina 3
Derivados de auristatina, por exemplo, amidas do mesmo	Briostatinas modificadas
Auristatina tiramina	Halocomstatinas

Auristatina quinolina	Pirrolobenzimidazóis
Dolastatinas	Cibrostatin6
Derivados de dolastatina	Doxaliform
Dolastatina 16 DmJ	Análogos de antraciclinas
Dolastatina 16 Dpv	
Maitansinoides, por exemplo, DM-1; DM-4	
Derivados de maitansinoide	Análogo de cemadotina (CemCH2-SH)
Duocarmicina	Variante de toxina de pseudomonas A (PE38)
Derivados de duocarmicina	Variante de toxina de pseudomonas A (ZZ-PE38)
Alfa-amanitina	ZJ-101
Antraciclinas	OSW-1
Doxorrubicina	Derivados de 4-nitrobenziloxycarbonila de O6-benzilguanina
Daunorrubicina	Inibidores de topoisomerase
Briostatinas	Hemiasterlina
Camptotecina	Cefalotaxina
Derivados de camptotecina	Homo-harringtonina
Camptotecina 7-substituída	Dímeros de pirrolobenzodiazepina (PBDs)
10, difluorometilenodioxicamptotecina	11- Pirrolobenzodiazepenos funcionalizados
Combretastatinas	Caliqueamicinas
Debromoaplisiatoxina	Podofilotoxinas

Kahalalida-F

Taxanos

Discodermolida

Alcaloides da vinca

Ecteinascidinas

PORÇÕES QUÍMICAS DETECTÁVEISCONJUGÁVEISANTIVIRAIS

Fluoresceína e derivados dos mesmos

Aciclovir

Isotiocianato de fluoresceína (FITC)

Vira A

Symmetrel

RADIOFARMACÊUTICOSANTIFÚNGICOS ^{125}I

Nistatina

 ^{131}I ^{89}Zr ^{111}In ANTINEOPLÁSICOS ADICIONAIS ^{123}I

Adriamicina

 ^{131}I

Cerubidina

 $^{99\text{m}}\text{Tc}$

Bleomicina

 ^{201}Tl

Alkeran

 ^{133}Xe

Velban

 ^{11}C

Oncovin

 ^{62}Cu

Fluorouracila

 ^{18}F

Metotrexato

 ^{68}Ga

Tiotepa

 ^{13}N

Bisantreno

 ^{15}O

Novantrona

 ^{38}K

Tioguanina

 ^{82}Rb

Procarabizina ^{99m}Tc (Tecnécio)

Citarabina

METAIS PESADOS

ANTIBACTERIANOS

Bário

Aminoglicosídeos

Ouro

Estreptomicina

Platina

Neomicina

Canamicina

ANTIMICOPLÁSMICOS

Amicacina

Tilosina

Gentamicina

Espectinomicina

Tobramicina

Estreptomicina B

Espectinomicina

Ampicilina

Sulfanilamida

Polimixina

Cloranfenicol

[0179] Aqueles de habilidade comum na técnica reconhecerão que uma grande variedade de porções químicas possíveis pode ser acoplada aos anticorpos resultantes, AAs, e BAAs da divulgação. (Consultar, por exemplo, “Conjugate Vaccines”, Contributions to Microbiology and Immunology, J. M. Cruse e R. E. Lewis, Jr (eds), Carger Press, New York, (1989), cujo conteúdo inteiro é incorporado ao presente documento a título de referência).

[0180] Em algumas modalidades, o anticorpo, AA ou BAA compreende uma porção química detectável. Em algumas modalidades, a porção química detectável é um agente diagnóstico.

[0181] Em algumas modalidades, o anticorpo, AA ou BAA contém uma ou mais ligações dissulfeto. Em algumas modalidades, o anticorpo, AA ou BAA contém uma ou mais lisinas. Em algumas modalidades, o anticorpo, AA ou BAA pode ser manipulado para incluir uma ou mais ligações dissulfeto ou pode ser manipulado de outro modo para possibilitar a conjugação sítio-específica.

11. PRODUÇÃO

[0182] A divulgação também fornece uma molécula de ácido nucleico isolada que codifica um anticorpo, AA ou BAA descrito no presente documento, assim como vetores que incluem estas sequências de ácido nucleico isoladas. A divulgação fornece métodos para produzir um anticorpo, AA ou BAA, cultivando-se uma célula sob condições que levaram à expressão do anticorpo, AA ou BAA, em que a célula compreende tal molécula de ácido nucleico.

[0183] Em algumas modalidades, a célula compreende tal vetor. Em algumas modalidades, o vetor é pLW289. Em algumas modalidades, o vetor é pLW246. Em algumas modalidades, o vetor é pLW307. Em algumas modalidades, o vetor é pLW291. Em algumas modalidades, o vetor é pLW352. Em algumas modalidades, o vetor é pLW353. (estes vetores descritos e sequências são fornecidos abaixo no Exemplo 1)

12. USO DE ANTICORPOS, AAS, ANTICORPOS BIESPECÍFICOS E BAAS

[0184] Em algumas modalidades, os anticorpos/anticorpos biespecíficos/AAs/BAAs dos mesmos podem ser usados como agentes terapêuticos. Tais agentes serão geralmente empregados para tratar, amenizar, e/ou prevenir uma doença ou patologia num indivíduo. Um regime terapêutico é executado identificando-se um indivíduo, por exemplo, um paciente humano ou outro mamífero que sofre de (ou com risco de desenvolver) um distúrbio com o uso de métodos padrão.

[0185] A administração dos anticorpos/anticorpos

biespecíficos/AAs/BAAAs do mesmo pode revogar ou inibir ou interferir com a função de sinalização de um ou mais dos alvos.

[0186] Será observado que a administração de entidades terapêuticas de acordo com a divulgação será administrada com carreadores, excipientes, e outros agentes adequados que são incorporados às formulações para fornecer transferência melhorada, administração, tolerância e semelhantes. Uma multiplicidade de formulações apropriadas pode ser encontrada no formulário conhecido por todos os químicos farmacêuticos: Remington's Pharmaceutical Sciences (15ª edição, Mack Publishing Company, Easton, PA (1975)), particularmente o Capítulo 87 por Blaug, Seymour, no mesmo. Estas formulações incluem, por exemplo, pós, pastas, pomadas, geleias, ceras, óleos, lipídios, vesículas (como Lipofectin™) que contêm lipídio (catiônico ou aniônico), conjugados de DNA, pastas de absorção anidras, emulsões de óleo em água e água em óleo, emulsões carbowax (polietileno glicóis de vários pesos moleculares), géis semissólidos, e misturas semissólidas que contêm carbowax. Qualquer uma das misturas supracitadas pode ser apropriada nos tratamentos e terapias de acordo com a presente divulgação, visto que o ingrediente ativo na formulação não é desativado pela formulação e a formulação é fisiologicamente compatível e tolerável com a rota de administração. Também consultar Baldrick P. "Pharmaceutical excipient development: the need for preclinical guidance." Regul. Toxicol Pharmacol. 32(2):210-218 (2000), Wang W. "Lyophilization and development of solid protein pharmaceuticals." Int. J. Pharm. 203(1-2):1-60 (2000), Charman WN "Lipids, lipophilic drugs, and oral drug delivery-some emerging concepts." J Pharm Sci.89(8):967-978 (2000), Powell *et al.* "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA J Pharm Sci Technol. 52:238-311 (1998) e as citações nos mesmos para informações adicionais relacionadas a formulações, excipientes e carreadores bem conhecidos por químicos farmacêuticos.

[0187] Em geral, a amenização ou o tratamento de uma doença ou distúrbio envolve a redução de um ou mais sintomas ou problemas médicos

associados à doença ou distúrbio. Por exemplo, no caso de câncer, a quantidade terapêuticamente eficaz do fármaco pode alcançar um ou uma combinação dos seguintes: reduzir o número de células de câncer; reduzir o tamanho de tumor; inibir (isto é, diminuir até certo ponto e/ou interromper) a infiltração de célula de câncer em órgãos periféricos; inibir a metástase de tumor; inibir, até certo ponto, o crescimento de tumor; e/ou aliviar, até certo ponto, um ou mais dos sintomas associados ao câncer. Em algumas modalidades, uma composição desta divulgação pode ser usada para impedir o início ou recorrência da doença ou distúrbio num indivíduo, por exemplo, um ser humano ou outro mamífero, como um primata não humano, animal de estimação (por exemplo, gato, cão, cavalo), animal de fazenda, animal de trabalho ou animal de zoológico. Os termos indivíduo e paciente são usados de modo intercambiável no presente documento.

[0188] A quantidade terapêuticamente eficaz de anticorpos/anticorpos biespecíficos/AAs/BAAAs do mesmo da divulgação se refere geralmente à quantidade necessária para alcançar um objetivo terapêutico.

[0189] As faixas comuns para dosagem terapêuticamente eficaz de um anticorpos/anticorpos biespecíficos/AAs/BAAAs do mesmo da divulgação podem ser, a título de exemplo não limitante, de cerca de 0,1 mg/kg de peso corporal a cerca de 50 mg/kg de peso corporal. As frequências de dosagem comuns podem estar na faixa de, por exemplo, duas vezes ao dia a uma vez na semana.

[0190] A eficácia de tratamento é determinada associada a qualquer método conhecido para diagnosticar ou tratar o distúrbio particular. Os métodos para triar anticorpos/anticorpos biespecíficos/AAs/BAAAs que possuem a especificidade incluem, mas sem limitação, ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) e outras técnicas imunologicamente mediadas conhecidas na técnica.

[0191] Outros usos contemplados envolvem usos de diagnóstico,

imaginologia, prognóstico e detecção. Em algumas modalidades, anticorpos/anticorpos biespecíficos/AAs/BAAs são usados em métodos conhecidos na técnica que se referem à localização e/ou quantificação do alvo (por exemplo, para uso na medição de níveis de um ou mais dos alvos em amostras fisiológicas apropriadas, para uso em métodos diagnósticos, para uso na imaginologia da proteína, e semelhantes).

[0192] Em algumas modalidades, anticorpos/anticorpos biespecíficos/AAs/BAAs são usados para isolar um ou mais dos alvos por técnicas padrão, como imunoafinidade, cromatografia ou imunoprecipitação. Um anticorpo, um AA, um anticorpo biespecífico ou um BAA podem ser usados de modo diagnóstico para monitorar níveis de proteína em tecido como parte de um procedimento de teste clínico, por exemplo, para determinar a eficácia de um dado regime de tratamento. A detecção pode ser facilitada acoplando-se (isto é, ligando-se fisicamente) o anticorpo a uma substância detectável. Exemplos de substâncias detectáveis incluem várias enzimas, grupos prostéticos, materiais fluorescentes, materiais luminescentes, materiais bioluminescentes e materiais radioativos. Os exemplos de enzimas adequadas incluem peroxidase de rábano silvestre, fosfatase alcalina, β -galactosidase, ou acetilcolinesterase; exemplos de complexos de grupo prostético adequados incluem estreptavidina/biotina e avidina/biotina; exemplos de materiais fluorescentes adequados incluem umbeliferona, fluoresceína, isotiocianato de fluoresceína, rodamina, diclorotriazinilamina fluoresceína, cloreto de dansil ou ficoeritrina; um exemplo de um material luminescente inclui luminol; exemplos de materiais bioluminescentes incluem luciferase, luciferina, e aequorina, e exemplos de material radioativo adequado incluem ^{125}I , ^{131}I , ^{35}S ou ^3H .

[0193] Em ainda outra modalidade, um anticorpo e um anticorpo biespecífico, AA, BAA que direcionaram dois ou mais alvos podem ser usados como um agente para detectar a presença de um ou mais dos alvos (ou um fragmento do mesmo) numa amostra. Em algumas modalidades, o anticorpo contém uma identificação detectável. Os anticorpos são policlonais, ou em

algumas modalidades, monoclonais. Um anticorpo intacto, ou um fragmento do mesmo (por exemplo, Fab, scFv, ou F(ab')₂) é usado. O termo “identificado”, em relação à sonda ou anticorpo, é destinado a abranger identificação direta da sonda ou anticorpo acoplando-se (isto é, ligando-se fisicamente) uma substância detectável à sonda ou anticorpo, assim como identificação indireta da sonda ou anticorpo por reatividade com outro reagente que é diretamente identificado. Os exemplos de identificação indireta incluem detecção de um anticorpo primário com o uso de um anticorpo secundário identificado de modo fluorescente e identificação de extremidade de um anticorpo com biotina de modo que possa ser detectado com estreptavidina identificada de modo fluorescente. O termo “amostra biológica” é destinado a incluir tecidos, células e fluidos biológicos isolados de um indivíduo, assim como tecidos, células e fluidos presentes num indivíduo. São incluídos no uso do termo “amostra biológica”, portanto, sangue e uma fração ou componente de sangue incluindo soro sanguíneo, plasma sanguíneo, ou linfonodo. Isto é, o método de detecção da divulgação pode ser usado para detectar uma proteína numa amostra biológica *in vitro*, assim como *in vivo*. Por exemplo, as técnicas *in vitro* para detecção de uma proteína de analito incluem ensaios de imunoabsorção enzimática (ELISAs), Western blots, imunoprecipitações e imunofluorescência. Os procedimentos para conduzir imunoensaios são descritos, por exemplo, em “ELISA: Theory and Practice: Methods in Molecular Biology”, Volume 42, J. R. Crowther (Ed.) Human Press, Totowa, NJ, 1995; “Immunoassay”, E. Diamandis e T. Christopoulos, Academic Press, Inc., San Diego, CA, 1996; e “Practice and Theory of Enzyme Immunoassays”, P. Tijssen, Elsevier Science Publishers, Amsterdã, 1985. Adicionalmente, as técnicas *in vivo* para detecção de uma proteína de analito incluem introduzir num indivíduo um anticorpo de proteína antianalito identificado. Por exemplo, o anticorpo pode ser identificado com um marcador radioativo cuja presença e localização num indivíduo podem ser detectadas por técnicas de imagiologia padrão.

[0194] Os anticorpos, anticorpos biespecíficos, AAs, e anticorpos

biespecíficos da divulgação são muito úteis numa variedade de formulações diagnósticas e profiláticas. numa modalidade, um anticorpo, AA, anticorpo biespecífico, BAA é administrado a pacientes que têm risco de desenvolver um ou mais dos distúrbios supracitados. A pré-disposição de um paciente ou órgão a um ou mais dos distúrbios pode ser determinada com o uso de marcadores genotípicos, serológicos ou bioquímicos.

[0195] Em outra modalidade da divulgação, um anticorpo, AA, anticorpo biespecífico, BAA é administrado a indivíduos humanos diagnosticados com uma indicação clínica associada a um ou mais dos distúrbios supracitados. Mediante diagnóstico, um anticorpo, AA, anticorpo biespecífico, BAA é administrado para mitigar ou reverter os efeitos da indicação clínica.

[0196] Anticorpos, anticorpos biespecíficos, AAs, e anticorpos biespecíficos também são úteis na detecção de um ou mais alvos em amostras de paciente e, conseqüentemente, são úteis como diagnósticos. Por exemplo, os anticorpos, anticorpos biespecíficos, AAs, e anticorpos biespecíficos da divulgação são usados em ensaios *in vitro*, por exemplo, ELISA, para detectar um ou mais níveis de alvo numa amostra de paciente.

[0197] numa modalidade, um anticorpo, AA, anticorpo biespecífico, BAA é imobilizado num suporte sólido (por exemplo, o poço (ou poços) de uma placa de microtitulação). O anticorpo imobilizado e/ou AA serve como um anticorpo de captura para qualquer alvo (ou quaisquer alvos) que pode estar presente numa amostra de teste. Antes de contatar o anticorpo imobilizado/AA com uma amostra de paciente, o suporte sólido é enxaguado e tratado com um agente de bloqueio, como proteína de leite ou albumina para impedir a adsorção não específica do analito.

[0198] Subseqüentemente, os poços são tratados com uma amostra de teste com suspeita de conter o antígeno, ou com uma solução que contém uma quantidade padrão do antígeno. Tal amostra é, por exemplo, uma amostra de soro de um indivíduo com suspeita de ter níveis de antígeno em

circulação considerada como diagnóstico de uma patologia. Após remover por enxágue a amostra de teste ou padrão, o suporte sólido é tratado com um segundo anticorpo que é identificado de modo detectável. O segundo anticorpo identificado serve como um anticorpo de detecção. O nível de identificação detectável é medido, e a concentração de antígeno alvo (ou antígenos alvo) na amostra de teste é determinada por comparação com uma curva padrão desenvolvida a partir das amostras padrão.

[0199] Será observado que, com base nos resultados obtidos com o uso do anticorpo, AA, anticorpo biespecífico, BAA num ensaio de diagnóstico *in vitro*, é possível simular uma doença num indivíduo com base em níveis de expressão do antígeno alvo (ou antígenos alvo). Para uma dada doença, as amostras de sangue são tomadas a partir de indivíduos diagnosticados como em vários estágios na progressão da doença, e/ou em vários pontos no tratamento terapêutico da doença. Com o uso de uma população de amostras que fornece resultados estatisticamente significativos para cada estágio de progressão ou terapia, uma faixa de concentrações do antígeno que pode ser considerada característica de cada estágio é designada.

[0200] Anticorpos, anticorpos biespecíficos, AAs, e BAAs também podem ser usados em métodos de diagnóstico e/ou imagiologia. Em algumas modalidades, tais métodos são métodos *in vitro*. Em algumas modalidades, tais métodos são métodos *in vivo*. Em algumas modalidades, tais métodos são métodos *in situ*. Em algumas modalidades, tais métodos são métodos *ex vivo*. Por exemplo, AAs, e anticorpos biespecíficos que têm uma CM enzimaticamente clivável podem ser usados para detectar a presença ou ausência de uma enzima que tem capacidade para clivar a CM. Tais AAs, e anticorpos biespecíficos podem ser usados em diagnósticos, os quais podem incluir a detecção *in vivo* (por exemplo, qualitativa ou quantitativa) de atividade enzimática (ou, em algumas modalidades, um ambiente de potencial de redução aumentado como o que pode fornecer a redução de uma ligação de dissulfeto) através do acúmulo medido de anticorpos ativados ou biespecíficos

(isto é, anticorpos ou anticorpos biespecíficos resultantes da clivagem de um AA ou um BAA) numa dada célula ou tecido de um dado organismo hospedeiro. Tal acúmulo de anticorpos biespecíficos ativados indica não apenas o tecido expressar atividade enzimática (ou um potencial de redução aumentado dependendo da natureza da CM), como também o tecido expressar pelo menos um alvo ao qual o anticorpo biespecífico ativado se liga.

[0201] Por exemplo, a CM pode ser selecionada para ser um substrato de protease para uma protease encontrada no local de um tumor, no local de uma infecção viral ou bacteriana num local biologicamente confinado (por exemplo, como num abscesso, num órgão, e semelhantes), e semelhantes. Pelo menos um dos ABs pode ser um que se liga a um antígeno alvo. Com o uso de métodos familiares para um indivíduo versado na técnica, uma identificação detectável (por exemplo, uma identificação fluorescente ou identificação radioativa ou marcador radioativo) pode ser conjugada com um AB ou outra região de um anticorpo, AA, anticorpo biespecífico, BAA. As identificações detectáveis adequadas são discutidas no contexto dos métodos de triagem acima e exemplos específicos adicionais são fornecidos abaixo. Com o uso de pelo menos um AB específico a uma proteína ou peptídeo do estado de doença, juntamente com uma protease cuja atividade é elevada no tecido de doença de interesse, AAs exibirão uma taxa aumentada de ligação a tecido de doença em relação a tecidos em que a enzima específica de CM não está presente num nível detectável ou está presente num nível mais baixo do que no tecido de doença ou está inativo (por exemplo, em forma zimogênea ou em complexo com um inibidor). Visto que proteínas pequenas e peptídeos são rapidamente removidos do sangue pelo sistema de filtração renal, e devido ao fato de que a enzima específica para a CM não está presente num nível detectável (ou está presente em níveis mais baixos em tecidos sem doença ou está presente em conformação inativa), o acúmulo de anticorpos biespecíficos ativados no tecido de doença é intensificado em relação aos tecidos sem doença.

[0202] Em outro exemplo, anticorpos, anticorpos/anticorpos biespecíficos/AAs/BAAAs da presente divulgação podem ser usados para detectar a presença ou ausência de um agente de clivagem numa amostra. Por exemplo, quando os anticorpos/anticorpos biespecíficos/AAs/BAAAs contêm uma CM suscetível à clivagem por uma enzima, os BAAAs podem ser usados para detectar (qualitativamente ou quantitativamente) a presença de uma enzima na amostra. Em outro exemplo, em que os anticorpos/anticorpos biespecíficos/AAs/BAAAs contêm uma CM suscetível à clivagem por agente de redução, os anticorpos/anticorpos biespecíficos/AAs/BAAAs podem ser usados para detectar (qualitativamente ou quantitativamente) a presença de condições de redução numa amostra. Para facilitar a análise nestes métodos, os anticorpos/anticorpos biespecíficos/AAs/BAAAs pode ser identificados de modo detectável, e pode ser ligado a um suporte (por exemplo, um suporte sólido, como um deslizador ou microesfera). A identificação detectável pode ser posicionada numa porção dos anticorpos/anticorpos biespecíficos/AAs/BAAAs que não é liberada após a clivagem, por exemplo, a identificação detectável pode ser uma identificação fluorescente bruscamente arrefecida ou outra identificação que não é detectável até a clivagem ter ocorrido. O ensaio pode ser conduzido, por exemplo, contactando-se os anticorpos/anticorpos biespecíficos/AAs/BAAAs identificados de modo detectável imobilizados com uma amostra com suspeita de conter uma enzima e/ou agente redutor por um tempo suficiente para a clivagem ocorrer, então, lavando-se para remover o excesso de amostra e contaminantes. A presença ou a ausência do agente de clivagem (por exemplo, enzima ou agente redutor) na amostra é, então, avaliada por uma mudança em sinal detectável dos anticorpos/anticorpos biespecíficos/AAs/BAAAs antes de contato com a amostra, por exemplo, a presença de e/ou um aumento em sinal detectável devido à clivagem dos anticorpos/anticorpos biespecíficos/AAs/BAAAs pelo agente de clivagem na amostra.

[0203] Tais métodos de detecção podem ser adaptados para

fornecer também a detecção da presença ou ausência de um alvo que tem capacidade para se ligar a pelo menos um AB dos anticorpos/anticorpos biespecíficos/AAs/BAAAs da presente divulgação. Deste modo, os ensaios podem ser adaptados para avaliar a presença ou ausência de um agente de clivagem e a presença ou ausência de um alvo de interesse. A presença ou ausência do agente de clivagem pode ser detectada pela presença de e/ou um aumento em identificação detectável dos anticorpos/anticorpos biespecíficos/AAs/BAAAs conforme descrito acima, e a presença ou ausência do alvo pode ser detectada pela detecção de um complexo alvo-AB, por exemplo, por uso de um anticorpo anti-alvo identificado de modo detectável.

[0204] AAs/BAAAs da presente divulgação também são úteis em imaginologia *in situ* para a validação de ativação de AA, por exemplo, por clivagem de protease, e ligação a um alvo particular. A imaginologia *in situ* é uma técnica que possibilita a localização de atividade proteolítica e alvo em amostras biológicas, como culturas celulares ou seções de tecido. Com o uso desta técnica, é possível confirmar tanto a ligação a um dado alvo quanto a atividade proteolítica com base na presença de uma identificação detectável (por exemplo, uma identificação fluorescente).

[0205] Estas técnicas são úteis com quaisquer células congeladas ou tecido derivado de um local de doença (por exemplo, tecido de tumor) ou tecidos saudáveis. Estas técnicas também são úteis com amostras de célula ou tecido novas.

[0206] Nestas técnicas, um AA/BAA é identificado com uma identificação detectável. A identificação detectável pode ser um corante fluorescente, (por exemplo, um fluoróforo, Isotiocianato de Fluoresceína (FITC), Isotiocianato de Rodamina (TRITC), uma identificação Alexa Fluor®), um corante quase infravermelho (NIR) (por exemplo, nanocristais Qdot®), um metal coloidal, um hapteno, um marcador radioativo, biotina e um reagente de amplificação, como estreptavidina, ou uma enzima (por exemplo, peroxidase de rábano silvestre ou fosfatase alcalina).

[0207] A detecção da identificação numa amostra que foi incubada com o AA ou BAA identificado indica que a amostra contém o alvo e contém uma protease que é específica para a CM dos AAs ou BAAs da presente divulgação. Em algumas modalidades, a presença da protease pode ser confirmada com o uso de inibidores de protease de espectro amplo, como aqueles descritos no presente documento, e/ou usando-se um agente que é específico para a protease, por exemplo, um anticorpo, como A11, que é específico para a protease matriptase (MT-SP1) e inibe a atividade proteolítica de MT-SP1; consultar, por exemplo, Publicação Internacional nº WO 2010/129609, publicada em 11 de novembro de 2010. A mesma abordagem de usar inibidores de protease de espectro amplo, como aqueles descritos no presente documento, e/ou usando-se um agente inibidor mais seletivo pode ser usada para identificar uma protease ou classe de proteases específica para a CM dos AAs ou BAAs da presente divulgação. Em algumas modalidades, a presença do alvo pode ser confirmada com o uso de um agente que é específico para o alvo ou a identificação detectável pode ser completada com alvo não identificado. Em algumas modalidades, AA não identificado pode ser usado, com detecção por um anticorpo secundário identificado ou sistema de detecção mais complexo.

[0208] As técnicas similares também são úteis para imagiologia *in vivo*, em que a detecção do sinal fluorescente num indivíduo, por exemplo, um mamífero, incluindo um ser humano, indica que o local de doença contém o alvo e contém uma protease que é específica para a CM dos AAs ou BAAs da presente divulgação.

[0209] Estas técnicas também são úteis em kits e/ou como reagentes para a detecção, identificação ou caracterização de atividade de protease numa variedade de células, tecidos, e organismos com base na CM específica de protease nos AAs ou BAAs da presente divulgação.

13. ADMINISTRAÇÃO TERAPÊUTICA

[0210] Será observado que a administração de entidades

terapêuticas de acordo com a divulgação será administrada com carreadores, excipientes, e outros agentes adequados que são incorporados às formulações para fornecer transferência melhorada, administração, tolerância e semelhantes. Uma multiplicidade de formulações apropriadas pode ser encontrada no formulário conhecido por todos os químicos farmacêuticos: Remington's Pharmaceutical Sciences (15ª edição, Mack Publishing Company, Easton, PA (1975)), particularmente o Capítulo 87 por Blaug, Seymour, no mesmo. Estas formulações incluem, por exemplo, pós, pastas, pomadas, geleias, ceras, óleos, lipídios, vesículas (como Lipofectin™) que contêm lipídio (catiônico ou aniônico), conjugados de DNA, pastas de absorção anidras, emulsões de óleo em água e água em óleo, emulsões carbowax (polietileno glicóis de vários pesos moleculares), géis semissólidos, e misturas semissólidas que contêm carbowax. Qualquer uma das misturas supracitadas pode ser apropriada nos tratamentos e terapias de acordo com a presente divulgação, visto que o ingrediente ativo na formulação não é desativado pela formulação e a formulação é fisiologicamente compatível e tolerável com a rota de administração. Também consultar Baldrick P. "Pharmaceutical excipient development: the need for preclinical guidance." Regul. Toxicol Pharmacol. 32(2):210-218 (2000), Wang W. "Lyophilization and development of solid protein pharmaceuticals." Int. J. Pharm. 203(1-2):1-60 (2000), Charman WN "Lipids, lipophilic drugs, and oral drug delivery-some emerging concepts." J Pharm Sci.89(8):967-978 (2000), Powell *et al.* "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA J Pharm Sci Technol. 52:238-311 (1998) e as citações nos mesmos para informações adicionais relacionadas a formulações, excipientes e carreadores bem conhecidos por químicos farmacêuticos.

[0211] Em algumas modalidades, os anticorpos, anticorpos biespecíficos, AAs, ou BAAs (ou composições conjugadas dos mesmos) são administrados em combinação com um ou mais agentes adicionais, ou com uma combinação de agentes adicionais. Os agentes adicionais adequados incluem terapias farmacêuticas e/ou cirúrgicas atuais para uma aplicação

pretendida. Por exemplo, os mesmos podem ser usados em combinação com um agente quimioterapêutico ou antineoplásico adicional.

[0212] Em algumas modalidades, os anticorpos, anticorpos biespecíficos, AAs, ou BAAs (ou composições conjugadas dos mesmos) da presente divulgação são administrados em combinação com um ou mais agentes adicionais selecionados do grupo que consiste em anticorpos, anticorpos conjugados, AAs, AAs conjugados, anticorpos biespecíficos, anticorpos biespecíficos conjugados, BAAs, ou BAAs conjugados. Em algumas modalidades, a porção de anticorpo de qualquer um dos agentes adicionais referidos acima é direcionada contra um alvo, como um ou mais dos alvos divulgados na Tabela 9. Observa-se que, em algumas modalidades, a porção de anticorpo de anticorpos, anticorpos biespecíficos, AAs, ou BAAs (ou composições conjugadas dos mesmos) da presente divulgação e a porção de anticorpo do agente adicional é direcionada ao mesmo alvo (por exemplo, ambas podem alvejar EGFR). Em algumas modalidades, as mesmas são direcionadas ao mesmo alvo, mas alvejam epítomos diferentes. Em algumas modalidades, as mesmas são direcionadas a alvos inteiramente diferentes (por exemplo, um anticorpo ativável da presente divulgação que alveja EGFR pode ser administrado em combinação com um AA que alveja um alvo diferente; de modo semelhante, por exemplo, um BAA da presente divulgação que alveja EGFR e CD3 pode ser administrado em combinação com um AA que alveja um alvo diferente.

[0213] Em algumas modalidades, anticorpos, anticorpos biespecíficos, AAs ou BAAs (ou composições conjugadas dos mesmos) da divulgação são administrados em combinação com um agente imunoterapêutico. Em algumas modalidades, anticorpos, anticorpos biespecíficos, AAs ou BAAs (ou composições conjugadas dos mesmos) da divulgação são administrados em combinação com um agente quimioterapêutico. Em algumas modalidades, anticorpos, anticorpos biespecíficos, AAs ou BAAs (ou composições conjugadas dos mesmos) da

divulgação são administrados em combinação tanto com um agente imunoterapêutico quanto com um agente quimioterapêutico. Em algumas modalidades, um ou mais agentes adicionais são administrados com qualquer uma destas modalidades em combinação.

[0214] Em algumas modalidades, as mesmas são formuladas numa composição terapêutica única, e os anticorpos/anticorpos biespecíficos/AAs/BAAAs do mesmo e o agente adicional são administrados simultaneamente. Alternativamente, os anticorpos/anticorpos biespecíficos/AAs/BAAAs do mesmo são administrados separados um do outro, por exemplo, cada um é formulado numa composição terapêutica separada, e os anticorpos/anticorpos biespecíficos/AAs/BAAAs do mesmo e o agente adicional são administrados simultaneamente, ou os anticorpos/anticorpos biespecíficos/AAs/BAAAs dos mesmos e o agente adicional são administrados em tempos diferentes durante um regime de tratamento. Os anticorpos/anticorpos biespecíficos/AAs/BAAAs do mesmo e o agente adicional podem ser administrados em múltiplas doses.

[0215] Os anticorpos/anticorpos biespecíficos/AAs/BAAAs do mesmo podem ser incorporados a composições farmacêuticas adequadas para administração. Os princípios e considerações envolvidos no preparo de tais composições, assim como diretrizes na escolha de componentes são fornecidos, por exemplo, em Remington's Pharmaceutical Sciences: The Science And Practice Of Pharmacy 19ª edição (Alfonso R. Gennaro, et al., editors) Mack Pub. Co., Easton, Pa. : 1995; Drug Absorption Enhancement : Concepts, Possibilities, Limitations, And Trends, Harwood Academic Publishers, Langhorne, Pa., 1994; e Peptide And Protein Drug Delivery (Advances In Parenteral Sciences, volume 4), 1991, M. Dekker, Nova Iorque.

[0216] Tais composições compreendem tipicamente os anticorpos/anticorpos biespecíficos/AAs/BAAAs do mesmo e um carreador farmacêuticamente aceitável.

[0217] Conforme usado no presente documento, o termo

“carreador farmacêuticamente aceitável” é destinado a incluir quaisquer e todos os solventes, meios de dispersão, revestimentos, agentes antibacterianos e antifúngicos, agentes de atraso de absorção e isotônicos, e semelhantes, compatíveis com administração farmacêutica. Os carreadores adequados são descritos na edição mais recente de Remington’s Pharmaceutical Sciences, um texto de referência padrão no campo, que é incorporado ao presente documento a título de referência. Os exemplos adequados de tais carreadores ou diluentes incluem, mas sem limitação, água, salmoura, soluções de Ringer, solução de dextrose, e albumina sérica humana 5%. Os lipossomos e os veículos não aquosos como óleos fixados também podem ser usados. O uso de tais meios e agentes para substâncias farmacêuticamente ativas é bem conhecido na técnica. Exceto por enquanto qualquer meio ou agente convencional ser incompatível com o composto ativo, o uso do mesmo nas composições é contemplado.

[0218] As formulações a serem usadas para administração *in vivo* devem ser estéreis. Isto é prontamente alcançado por filtração através de membranas de filtração estéril.

[0219] Uma composição farmacêutica da divulgação é formulada como compatível com sua rota pretendida de administração. Os exemplos de rotas de administração incluem administração parentérica, por exemplo, intravenosa, intradérmica, subcutânea, oral (por exemplo, inalação), transdérmica (isto é, tópica), transmucosal e retal. As soluções ou suspensões usadas para aplicação parentérica, intradérmica ou subcutânea pode incluir os seguintes componentes: um diluente estéril, como água para injeção, solução salina, óleos fixados, polietileno glicóis, glicerina, propileno glicol ou outros solventes sintéticos; agentes antibacterianos, como álcool benzílico ou metil parabeno; antioxidantes, como ácido ascórbico ou bissulfito de sódio; agentes quelantes, como ácido etilendiaminatetra-acético (EDTA); tampões, como acetatos, citratos ou fosfatos, e agentes para o ajuste de tonicidade, como cloreto de sódio ou dextrose. O pH pode ser ajustado com ácidos ou bases,

como ácido clorídrico ou hidróxido de sódio. A preparação parentérica pode ser envolvida em ampolas, seringas descartáveis ou frascos de múltiplas doses feitos de vidro ou plástico.

[0220] As composições farmacêuticas adequadas para uso injetável incluem soluções aquosas estéreis (quando solúveis em água) ou dispersões e pós estéreis para a preparação extemporânea de soluções injetáveis estéreis ou dispersão. Para administração intravenosa, os carreadores adequados incluem salmoura fisiológica, água bacteriostática, Cremophor EL[™] (BASF, Parsippany, N.J.) ou salmoura tamponada com fosfato (PBS). Em todos os casos, a composição deve ser estéril e deve ser fluida até o ponto em que a seringabilidade existe. A mesma deve estar estável sob as condições de fabricação e armazenamento e deve ser preservada contra a ação contaminante de micro-organismos, como bactérias e fungos. O carreador pode ser um solvente ou meio de dispersão que contém, por exemplo, água, etanol, poliol (por exemplo, glicerol, propileno glicol, e polietileno glicol líquido, e semelhantes), e misturas adequadas dos mesmos. A fluidez apropriada pode ser mantida, por exemplo, pelo uso de um revestimento, como lecitina pela manutenção do tamanho de partícula necessário no caso de dispersão e pelo uso de tensoativos. O impedimento da ação de micro-organismos pode ser alcançado por vários agentes antibacterianos e antifúngicos, por exemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido ascórbico, timerossal, e semelhantes. Em muitos casos, será adequado incluir agentes isotônicos, por exemplo, açúcares, poliálcoois, como manitol, sorbitol, cloreto de sódio na composição. A absorção prolongada das composições injetáveis pode ser provocada incluindo-se na composição um agente que atrasa a absorção, por exemplo, monoestearato de alumínio e gelatina.

[0221] As soluções injetáveis estéreis podem ser preparadas incorporando-se o composto ativo na quantidade necessária num solvente apropriado com uma ou uma combinação de ingredientes enumerados acima,

conforme necessário, seguido por esterilização filtrada. Em geral, as dispersões são preparadas incorporando-se o composto ativo num veículo estéril que contém um meio de dispersão básico e os outros ingredientes necessários daqueles enumerados acima. No caso de pós estéreis para a preparação de soluções injetáveis estéreis, os métodos de preparação são secagem a vácuo e secagem por congelamento que rende um pó do ingrediente ativo mais qualquer ingrediente desejável adicional de uma solução anteriormente filtrada por esterilização do mesmo.

[0222] As composições orais incluem geralmente um diluente inerte ou um carreador comestível. As mesmas podem ser envolvidas em cápsulas de gelatina ou comprimidas em tabletes. Com o propósito de oral administração terapêutica oral, o composto ativo pode ser incorporado a excipientes e usado na forma de tabletes, trociscos ou cápsulas. As composições orais também podem ser preparadas com o uso de um carreador fluido para uso como um enxaguante bucal, em que o composto no carreador fluido é aplicado oralmente e bochechado e expectorado ou engolido. Os agentes de ligação farmacologicamente compatíveis e/ou materiais adjuvantes podem ser incluídos como parte da composição. Os comprimidos, pílulas, cápsulas, trociscos e similares podem conter qualquer um dos seguintes ingredientes ou compostos de uma natureza similar: um aglutinante como celulose microcristalina, goma tragacanto ou gelatina; um excipiente como amido ou lactose, um agente de desintegração como ácido algínico, Primogel ou amido de milho; um lubrificante como estearato de magnésio ou Sterotes; um agente antiaderente como dióxido de silício coloidal; um agente adoçante como sacarose ou sacarina; ou um agente aromatizante como hortelã, salicilato de metila ou aromatizante de laranja.

[0223] Para administração por inalação, os compostos são administrados na forma de uma aspensão de aerossol de recipiente pressurizado ou dispensador que contém um propulsor adequado, por exemplo, um gás, como dióxido de carbono, ou um nebulizador.

[0224] A administração sistêmica também pode ser por meios transmucosais ou transdérmicos. Para administração transmucosal ou transdérmica, os penetrantes apropriados para a barreira a ser permeada são usados na formulação. Tais penetrantes são geralmente conhecidos na técnica e incluem, por exemplo, para administração transmucosal, detergentes, sais de bile, e derivados de ácido fusídico. A administração transmucosa pode ser realizada através do uso de aspersões nasais ou supositórios. Para administração transdérmica, os compostos ativos são formulados em pomadas, unguentos, géis ou cremes, conforme geralmente conhecido na técnica.

[0225] Os compostos também podem ser preparados na forma de supositórios (por exemplo, com bases supositórias convencionais, como manteiga de cacau e outros glicerídeos) ou enemas de retenção para administração retal.

[0226] numa modalidade, os compostos ativos são preparados com carreadores que protegerão o composto contra eliminação rápida do corpo, como formulações de liberação sustentada/controlada, incluindo implantes e sistemas de administração microencapsulada. Os polímeros biocompatíveis biodegradáveis podem ser usados, como acetato de etileno vinila, polianidridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres, e ácido polilático. Os métodos para preparação de tais formulações ficarão evidentes aos versados na técnica.

[0227] Por exemplo, os ingredientes ativos podem ser retidos em microcápsulas preparadas, por exemplo, por técnicas de coacervação ou por polimerização interfacial, por exemplo, hidroximetilcelulose ou microcápsulas de gelatina e microcápsulas de poli-(metilmetacrilato), respectivamente, em sistemas de administração de fármaco coloidal (por exemplo, lipossomos, microesferas de albumina, microemulsões, nanopartículas, e nanocápsulas) ou em macroemulsões.

[0228] As preparações de liberação sustentada podem ser preparadas. Os exemplos adequados de preparações de liberação sustentada

incluem matrizes semipermeáveis de polímeros hidrofóbicos sólidos que contêm o anticorpo, cujas matrizes estão na forma de artigos conformados, por exemplo, filmes, ou microcápsulas. Os exemplos de matrizes de liberação sustentada incluem poliésteres, hidrogéis (por exemplo, poli(2-hidroxietilmetacrilato), ou poli(vinilálcool)), polilactidas (Patente nº U.S. 3.773.919), copolímeros de ácido L-glutâmico e γ etil-L-glutamato, acetato de etileno-vinila não degradável, copolímeros de ácido láctico-ácido glicólico degradáveis, como o LUPRON DEPOTTM (microesferas injetáveis compostas de copolímero de ácido láctico-ácido glicólico e acetato de leuprolida), e ácido poli-D-(-)-3-hidroxi-butírico. Enquanto os polímeros, como acetato de etileno-vinila e ácido láctico-ácido glicólico possibilitam a liberação de moléculas por mais do que 100 dias, certos hidrogéis liberam proteínas por períodos de tempo mais curtos.

[0229] Os materiais também podem ser comercialmente obtidos junto à Alza Corporation and Nova Pharmaceuticals, Inc. As suspensões lipossômicas (incluindo lipossomos alvejados a células infectadas com anticorpos monoclonais para antígenos virais) e também podem ser usadas como carreadores farmacologicamente aceitáveis. Os mesmos podem ser preparados de acordo com métodos conhecidos por aqueles versados na técnica, por exemplo, conforme descrito na Patente nº U.S. 4.522.811.

[0230] É especialmente vantajoso formular composições orais ou parentéricas em forma de dosagem unitária para a facilidade de administração e uniformidade de dosagem. A forma de dosagem unitária, conforme usado no presente documento, se refere a unidades fisicamente distintas adequadas como dosagens unitárias para o indivíduo a ser tratado; cada unidade que contém uma quantidade predeterminada de composto ativo calculada para produzir o efeito terapêutico desejável associado ao carreador farmacêutico necessário. A especificação para as formas de dosagem unitária da divulgação é ditada por e diretamente dependente das únicas características do composto ativo e do efeito terapêutico particular a ser alcançado, e as limitações inerente na técnica de composição, como um composto ativo para o tratamento de

indivíduos.

[0231] As composições farmacêuticas podem ser incluídas num recipiente, pacote ou dispensador junto com instruções para administração.

[0232] A formulação também pode conter mais do que um composto ativo conforme necessário para a indicação particular tratada, por exemplo, aqueles com atividades complementares que não afetam de modo adverso um ao outro. Alternativamente, ou além disto, a composição pode compreender um agente que intensifica sua função, como, por exemplo, um agente citotóxico, citocina, agente quimioterapêutico, ou agente inibidor de crescimento. Tais moléculas são adequadamente presentes em combinação em quantidades que são eficazes com o propósito pretendido.

[0233] numa modalidade, os compostos ativos são administrados em terapia de combinação, isto é, combinados com outros agentes, por exemplo, agentes terapêuticos, que são úteis para tratar afecções ou distúrbios patológicos, como distúrbios autoimunes e doenças inflamatórias. O termo “em combinação” neste contexto significa que os agentes são dados de modo substancialmente contemporâneo, simultânea ou sequencialmente. Se dado sequencialmente, no início de administração do segundo composto, os primeiros dos dois compostos ainda são detectáveis em concentrações eficazes no local de tratamento.

[0234] Por exemplo, a terapia de combinação pode incluir um ou mais anticorpos/anticorpos biespecíficos/AAs/BAA dos mesmos da divulgação coformulados com, e/ou coadministrados com, um ou mais agentes terapêuticos adicionais, por exemplo, uma ou mais citocinas e inibidores de fator de crescimento, imunossuppressores, agentes anti-inflamatórios, inibidores metabólicos, inibidores de enzima, e/ou agentes citotóxicos ou citostáticos, conforme descrito em mais detalhes abaixo. Adicionalmente, um ou mais anticorpos/anticorpos biespecíficos/AAs/BAA dos mesmos descritos no presente documento podem ser usados em combinação com dois ou mais dos agentes terapêuticos descritos no presente documento (por exemplo um BAA

administrado com outro BAA ou AA da divulgação, e semelhantes). Tais terapias de combinação podem utilizar vantajosamente dosagens mais baixas dos agentes terapêuticos administrados, evitando, deste modo, possíveis toxicidades ou complicações associadas às várias monoterapias.

[0235] Em outras modalidades, um ou mais anticorpos da divulgação podem ser coformulados com, e/ou coadministrados com, um ou mais fármacos anti-inflamatórios, imunossupressores, ou inibidores metabólicos ou enzimáticos. Os exemplos não limitantes dos fármacos ou inibidores que podem ser usados em combinação com os anticorpos descritos no presente documento incluem, mas sem limitação, um ou mais de: fármacos anti-inflamatórios não esteroidais (NSAIDs), por exemplo, ibuprofeno, tenidap, naproxeno, meloxicam, piroxicam, diclofenac, e indometacina; sulfasalazina; corticosteroides, como prednisolona; fármacos anti-inflamatórios supressores de citocina (CSAIDs); inibidores de biossíntese de nucleotídeo, por exemplo, inibidores de biossíntese de purina, antagonistas de folato (por exemplo, metotrexato (ácido N-[4-[[[(2,4-diamino-6-pteridinil)metil]metilamino]benzoil]-L-glutâmico); e inibidores de biossíntese de pirimidina, por exemplo, inibidores de di-hidro-orotato desidrogenase (DHODH). Os agentes terapêuticos adequados para uso em combinação com os anticorpos da divulgação incluem NSAIDs, CSAIDs, (DHODH) inibidores (por exemplo, leflunomida), e antagonistas de folato (por exemplo, metotrexato).

[0236] Exemplos de inibidores adicionais incluem um ou mais de: corticosteroides (oral, inalado e injeção local); imunossupressores, por exemplo, ciclosporina, tacrolimus (FK-506); e inibidores de mTOR, por exemplo, sirolimus (rapamicina - RAPAMUNETM ou derivados de rapamicina, por exemplo, derivados de rapamicina solúveis (por exemplo, derivados de rapamicina de éster, por exemplo, CCI-779); agentes que interferem na sinalização por citocinas pró-inflamatórias, como TNF α ou IL-1 (por exemplo, inibidores de IRAK, NIK, IKK, p38 ou MAP quinase); inibidores de COX2, por exemplo, celecoxib, rofecoxib, e variantes dos mesmos; inibidores de

fosfodiesterase, por exemplo, R973401 (inibidor de fosfodiesterase do tipo IV); inibidores de fosfolipase, por exemplo, inibidores de fosfolipase citosólica 2 (cPLA2) (por exemplo, análogos de trifluorometil cetona); inibidores de fator de crescimento celular endotelial vascular ou receptor de fator de crescimento, por exemplo, inibidor de VEGF e/ou inibidor de VEGF-R; e inibidores de angiogênese. Os agentes terapêuticos adequados para uso em combinação com os anticorpos da divulgação são imunossupressores, por exemplo, ciclosporina, tacrolimus (FK-506); inibidores de mTOR, por exemplo, sirolimus (rapamicina) ou derivados de rapamicina, por exemplo, derivados de rapamicina solúvel (por exemplo, derivados de rapamicina de éster, por exemplo, CCI-779); inibidores de COX2, por exemplo, celecoxib e variantes dos mesmos; e inibidores de fosfolipase, por exemplo, inibidores de fosfolipase citosólica 2 (cPLA2), por exemplo, análogos de trifluorometil cetona.

[0237] Os exemplos adicionais de agentes terapêuticos que podem ser combinados com um anticorpo da divulgação incluem um ou mais de: 6-mercaptopurinas (6-MP); azatioprina sulfasalazina; mesalazina; olsalazina; cloroquina/hidroxicloroquina (PLAQUENIL[®]); pencilamina; aurotiornalato (intramuscular e oral); azatioprina; colchicina; agonistas de adrenoreceptor beta-2 (salbutamol, terbutalina, salmeteral); xantinas (teofilina, arninafilina); cromoglicato; nedocromila; cetotifeno; ipratrópio e oxitropio; micofenolato mofetila; agonistas de adenosina; agentes antitrombóticos; inibidores complementares; e agentes adrenérgicos.

[0238] Em algumas modalidades, os anticorpos/anticorpos biespecíficos/AAs/BAAAs dos mesmos da divulgação podem ser combinados com um ou mais anticorpos/anticorpos biespecíficos/AAs/BAAAs dos mesmos.

14. KITS E ARTIGOS DE FABRICAÇÃO

[0239] São fornecidos no presente documento kits e artigos de fabricação que compreendem quaisquer um ou mais dos anticorpos, AAs, anticorpos biespecíficos, e BAAAs fornecidos no presente documento

[0240] Os kits e artigos de fabricação podem compreender

quaisquer um ou mais dos anticorpos, AAs, anticorpos biespecíficos, e BAAs fornecidos no presente documento num formato adequado para armazenamento ou transporte.

[0241] Os kits e artigos de fabricação podem compreender pelo menos um segundo componente.

[0242] Os kits e artigos de fabricação podem compreender um vaso, um diluente, um solvente, uma segunda composição, ou qualquer componente útil para converter uma composição num formato para armazenamento numa composição adequada para uso num método divulgado no presente documento, se tal conversão for necessária. O método pode ser, por exemplo, um método terapêutico divulgado no presente documento. O kit pode compreender instruções para uso.

[0243] Os kits e artigos de fabricação podem compreender um agente conforme divulgado no presente documento, por exemplo, um agente citotóxico ou uma identificação detectável, num formato adequado para conjugação com os anticorpos, AAs, anticorpos biespecíficos, e BAAs fornecidos no presente documento.

[0244] Os seguintes exemplos são incluídos com propósitos ilustrativos e não são destinados a limitar o escopo da invenção.

MODALIDADES NUMERADAS

[0245] A invenção pode ser definida a título de referência para as modalidades enumeradas ilustrativas a seguir.

[0246] 1. Um anticorpo ativável biespecífico (BAA) em que o dito BAA, quando ativado, se liga especificamente a dois alvos e compreende a seguinte estrutura:

a. um anticorpo de IgG (AB1) que se liga especificamente a um primeiro alvo em que o AB1 compreende duas cadeias pesadas (HCs de AB1) e duas cadeias leves (LCs de AB1); e em que o AB1 é ligado a uma primeira porção química de mascaramento (MM1) ligada a uma primeira porção química clivável (CM1) para formar um construto MM1-CM1, em que a terminação

carboxila de um construto MM1-CM1 é ligada a cada terminação amino de cada cadeia leve do AB1, em que

a MM1 inibe a ligação do AB1 ao seu alvo; e

a CM1 é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma primeira protease,

b. dois scFvs (cada um AB2) que se ligam especificamente a um segundo alvo, em que cada AB2 compreende uma região variável de cadeia leve ligada a uma região variável de cadeia pesada, em que a terminação carboxila de cada AB2 é ligada à terminação amino de cada uma das cadeias pesadas de AB1; e em que cada AB2 é ligado a uma segunda porção química de mascaramento (MM2) ligada a uma segunda porção química clivável (CM2) para formar um construto MM2-CM2, em que a terminação carboxila de cada construto MM2-CM2 é ligada à terminação amino de cada AB2, em que

a MM2 inibe a ligação do AB2 ao seu alvo; e

a CM2 é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma segunda protease,

e em que o BAA tem pelo menos uma das seguintes características:

i. MM2 compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO: 12;

ii. MM1 compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em sequências apresentadas na Tabela 7;

iii. AB2 compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2 ou SEQ ID NO: 3 ou um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 4; e

iv. AB1 compreende uma região Fc que compreende uma substituição de aminoácido em pelo menos uma das posições de aminoácido L234, L235, N297, e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o BAA tenha função efetora reduzida.

[0247] 2. O BAA da modalidade 1, em que AB2 compreende um domínio variável de cadeia pesada, conforme apresentado na SEQ ID NO: 2 ou

SEQ ID NO: 3 e um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 4.

[0248] 3. O BAA da modalidade 1, em que o AB1 se liga a um alvo de tumor e o AB2 se liga a um alvo efetor imune.

[0249] 4. O BAA, de qualquer uma das modalidades 1 a 3, em que o BAA é um AA (TCBAA) biespecífico de engate de célula T (TCB).

[0250] 5. O BAA, de qualquer uma das modalidades 1 a 4, em que o AB1 se liga a EGFR e o AB2 se liga a CD3ε.

[0251] 6. O BAA, de qualquer uma das modalidades 1 a 5, em que a MM1 compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em sequências apresentadas na Tabela 7.

[0252] 7. O BAA, de qualquer uma das modalidades 1 a 5, em que a MM1 compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste na SEQ ID NO: 85 e SEQ ID NO: 78.

[0253] 8. O BAA, de qualquer uma das modalidades 1 a 5, em que a MM1 compreende a SEQ ID NO: 78.

[0254] 9. O BAA, de qualquer uma das modalidades 1 a 8, em que a MM2 compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO: 12.

[0255] 10. O BAA, de qualquer uma das modalidades 1 a 9, em que a CM compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 14.

[0256] 11. O BAA, de qualquer uma das modalidades 1 a 9, em que a CM compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 17.

[0257] 12. O BAA, de qualquer uma das modalidades 1 a 9, em que a CM compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 16.

[0258] 13. O BAA, de qualquer uma das modalidades 1 a 9, em que CM1 compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que compreende a SEQ ID NO: 14 e SEQ ID NO: 16.

[0259] 14. O BAA, de qualquer uma das modalidades 1 a 9, em que a CM2 compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 14 e SEQ ID NO: 17.

[0260] 15. O BAA, de qualquer uma das modalidades 1 a 14, em que AB1 compreende substituições de aminoácido em pelo menos duas das posições de aminoácido L234, L235 e P331.

[0261] 16. O BAA, da modalidade 15, em que AB1 compreende as substituições de aminoácido nas posições de aminoácido L234, L235 e P331.

[0262] 17. O BAA, da modalidade 15, em que AB1 compreende substituições de aminoácido L234F, L235E e P331S.

[0263] 18. O BAA da modalidade 15, em que o AB1 compreende uma região Fc que compreende uma substituição de aminoácido em N297.

[0264] 19. O BAA de qualquer uma das modalidades 1 a 14, em que AB1 compreende substituições de aminoácido nas posições de aminoácido L234F, L235E, P331S e N297Q.

[0265] 20. O BAA da modalidade 1, em que a cadeia pesada do AB1 compreende qualquer uma das SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75 e SEQ ID NO: 76, conforme apresentado na Tabela 6.

[0266] 21. O CI106 de BAA que compreende a configuração e a sequência conforme fornecido na Tabela 11 e no Exemplo 1.

[0267] 22. CI107 de BAA caracterizado pelo fato de que compreende a configuração e a sequência conforme fornecido na Tabela 11 e no Exemplo 1.

[0268] 23. CI079 de BAA caracterizado pelo fato de que compreende a configuração e a sequência conforme fornecido na Tabela 11 e no Exemplo 1.

[0269] 24. CI090 de BAA caracterizado pelo fato de que compreende a configuração e a sequência conforme fornecido na Tabela 11 e no Exemplo 1.

[0270] 25. Um anticorpo ativável (AA) que compreende:

a) um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo (AB) que se liga especificamente à cadeia épsilon de CD3 (CD3 ϵ);

b) uma porção química de mascaramento (MM) acoplada ao AB, em que a MM reduz ou inibe a ligação do AB ao CD3 ϵ quando o AA está num estado não clivado, em que a MM compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO: 12; e

c) uma porção química clivável (CM) acoplada ao AB, em que a CM é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma protease.

[0271] 26. O AA da modalidade 25, em que a CM compreende qualquer uma das sequências apresentadas na Tabela 4.

[0272] 27. O AA da modalidade 25, em que a CM compreende um substrato clivável por uma serina protease ou uma MMP.

[0273] 28. O AA da modalidade 25, em que a CM compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste na SEQ ID NO: 18-56.

[0274] 29. O AA da modalidade 25, em que a protease é uma MMP.

[0275] 30. O AA da modalidade 25, em que a protease é uma serina protease.

[0276] 31. O AA da modalidade 25, em que a AB que se liga especificamente a CD3 é o anticorpo, de qualquer uma das modalidades 38 a 47.

[0277] 32. Um anticorpo ativável (AA) que compreende:

a. um anticorpo ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo (AB) que se liga especificamente ao Receptor de Fator de Crescimento Epidérmico (EGFR);

b. uma porção química de mascaramento (MM) acoplada ao AB, em que a MM reduz ou inibe a ligação do AB ao EGFR quando o AA está num estado não clivado, e em que a MM compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas sequências apresentadas na Tabela 7; e

c. uma porção química clivável (CM) acoplada ao AB, em que a CM

é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma protease.

[0278] 33. O AA da modalidade 32, em que a MM compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 78.

[0279] 34. O AA de qualquer uma das modalidades 32 a 33, em que a CM compreende um substrato clivável por uma serina protease ou uma MMP.

[0280] 35. O AA de qualquer uma das modalidades 32 a 33, em que a CM compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste na SEQ ID NO: 18-56.

[0281] 36. O AA da modalidade 32, em que a CM compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 14.

[0282] 37. O AA da modalidade 32, em que a CM compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 16.

[0283] 38. Um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo (AB) que se liga especificamente à cadeia épsilon de CD3 (CD3 ϵ), em que o anticorpo compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2 ou SEQ ID NO: 3 ou um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 4.

[0284] 39. O AB da modalidade 38, em que o anticorpo compreende um domínio variável de cadeia pesada, conforme apresentado na SEQ ID NO: 2 ou SEQ ID NO: 3 e um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 4.

[0285] 40. O AB da modalidade 38 que compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2.

[0286] 41. O AB da modalidade 38 que compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 3.

[0287] 42. O AB da modalidade 38, em que o anticorpo compreende um domínio variável de cadeia leve, conforme apresentado na SEQ ID NO: 1.

[0288] 43. O AB da modalidade 38 que compreende um domínio

variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 4.

[0289] 44. O AB da modalidade 38 que compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2 e um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1.

[0290] 45. O AB da modalidade 38 que compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 3 e um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1.

[0291] 46. O AB da modalidade 38 que compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 3 e um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 4.

[0292] 47. O AB da modalidade 38 que compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2 e um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 4.

[0293] 48. O AB de qualquer uma das modalidades 32 a 47, em que o AB é um AB biespecífico.

[0294] 49. O AA de qualquer uma das modalidades 32 a 47, em que o anticorpo é um scFv.

[0295] 50. O AA de qualquer uma das modalidades 32 a 47, em que o anticorpo é um anticorpo de IgG1.

[0296] 51. Um anticorpo ativável (AA) que compreende:

a) um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo (AB) que se liga especificamente à cadeia épsilon de CD3 (CD3 ϵ), em que o anticorpo compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2 ou SEQ ID NO: 3 ou compreende um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 4;

b) uma porção química de mascaramento (MM) acoplada ao AB, em que a MM reduz ou inibe a ligação do AB ao CD3 ϵ quando o AA está num estado não clivado; e

c) uma porção química clivável (CM) acoplada ao AB, em que a CM

é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma protease.

[0297] 52. O AA da modalidade 51, em que o AB compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2.

[0298] 53. O AA da modalidade 51, em que o AB compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 3.

[0299] 54. O AA da modalidade 51, em que o AB compreende um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1.

[0300] 55. O AA da modalidade 51, em que o AB compreende um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 4.

[0301] 56. O AA da modalidade 51, em que o AB compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2 e um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1.

[0302] 57. O AA da modalidade 51, em que o AB compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 3 e um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1.

[0303] 58. O AA da modalidade 51, em que o AB compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2 e um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 4.

[0304] 59. O AA da modalidade 51, em que o AB compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 3 e um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 4.

[0305] 60. O AA de qualquer uma das modalidades 51 a 59, em que a MM compreende qualquer uma das sequências apresentadas na Tabela 3.

[0306] 61. O AA de qualquer uma das modalidades 51 a 59, em que a CM compreende qualquer uma das sequências apresentadas na Tabela 4.

[0307] 62. Um anticorpo ativável biespecífico (BAA) que compreende qualquer um dos AAs das modalidades 51 a 61.

[0308] 63. Um anticorpo ativável (AA) que compreende:

a. um anticorpo (AB) que se liga especificamente a um alvo, em que o anticorpo é um anticorpo de IgG1, e em que a região Fc do anticorpo compreende uma substituição de aminoácido em posições de aminoácido L234, L235, e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o AA tenha função efetora reduzida;

b. uma porção química de mascaramento (MM) acoplada ao AB, em que a MM reduz ou inibe a ligação do AB ao alvo quando o AA está num estado não clivado; e

c. uma porção química clivável (CM) acoplada ao AB, em que a CM é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma protease.

[0309] 64. O AA da modalidade 63, em que a região Fc compreende substituições de aminoácido em pelo menos posições de aminoácido L234, L235, N297 e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o AA tenha função efetora reduzida.

[0310] 65. O AA da modalidade 63 ou 64, em que o alvo é selecionado do grupo que consiste nos alvos apresentados na Tabela 9.

[0311] 66. Um anticorpo ativável biespecífico (BAA) que compreende:

a. um anticorpo de IgG (AB1) que se liga especificamente a um primeiro alvo em que o AB1 compreende duas cadeias pesadas (HCs de AB1) e duas cadeias leves (LCs de AB1); e em que o AB1 é ligado a uma primeira porção química de mascaramento (MM1) ligada a uma primeira porção química clivável (CM1) para formar um construto MM1-CM1, em que a terminação carboxila de um construto MM1-CM1 é ligada a cada terminação amino de cada cadeia leve do AB1, em que

a MM1 inibe a ligação do AB1 ao seu alvo; e

a CM1 é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma primeira protease,

b. dois scFvs (sendo que cada um é AB2) que se liga

especificamente a um segundo alvo em que cada AB2 compreende uma região variável de cadeia pesada ligada a uma região variável de cadeia leve, em que a terminação carboxila de cada AB2 é ligada à terminação amino de cada uma das cadeias pesadas de AB1; e em que cada AB2 é ligado a uma segunda porção química de mascaramento (MM2) ligada a uma segunda porção química clivável (CM2) para formar um construto MM2-CM2, em que a terminação carboxila de cada construto MM2-CM2 é ligada à terminação amino de cada AB2, em que

a MM2 inibe a ligação do AB2 ao seu alvo; e

a CM2 é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma segunda protease,

e em que o AB1 compreende uma região Fc que compreende uma substituição de aminoácido em pelo menos uma das posições de aminoácido L234, L235, N297, e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o BAA tenha função efetora reduzida.

[0312] 67. O BAA da modalidade 66, em que a região Fc compreende substituições de aminoácido em pelo menos posições de aminoácido L234, L235, N297 e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o BAA tenha função efetora reduzida.

[0313] 68. O BAA da modalidade 66, em que a região Fc compreende substituições de aminoácido em pelo menos posições de aminoácido L234, L235, e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o BAA tenha função efetora reduzida.

[0314] 69. O BAA de qualquer uma das modalidades 66 a 68, em que o primeiro alvo é selecionado do grupo que consiste nos alvos apresentados na Tabela 9 e o segundo alvo é selecionado do grupo que consiste nos alvos apresentados na Tabela 9.

[0315] 70. O AA ou BAA de qualquer uma das modalidades acima, em que o fragmento de ligação ao antígeno do mesmo é selecionado do grupo

que consiste num fragmento Fab, um fragmento F(ab')₂, um scFv, um scAb, um dAb, um anticorpo de cadeia pesada de domínio único, e um anticorpo de cadeia leve de domínio único.

[0316] 71. O AA ou BAA de qualquer uma das modalidades acima, em que o anticorpo é um anticorpo de roedor, um anticorpo quimérico, um anticorpo humanizado, ou um anticorpo monoclonal completamente humano.

[0317] 72. O AA de qualquer uma das modalidades 32 a 37 e 51 a 71, em que o AA é um BAA.

[0318] 73. Uma composição farmacêutica que compreende o anticorpo, AA, ou BAA de qualquer uma das modalidades 1 a 72, e opcionalmente um carreador.

[0319] 74. A composição farmacêutica da modalidade 73 que compreende um agente adicional.

[0320] 75. A composição farmacêutica da modalidade 74, em que o agente adicional é um agente terapêutico.

[0321] 76. Uma molécula de ácido nucleico isolado que codifica o anticorpo, AA, ou BAA, de qualquer uma das modalidades 1 a 72.

[0322] 77. Um vetor que compreende a molécula de ácido nucleico isolado da modalidade 76.

[0323] 78. Um vetor que compreende a sequência de ácido nucleico de pLW289.

[0324] 79. Um vetor que compreende a sequência de ácido nucleico de pLW246.

[0325] 80. Um vetor que compreende a sequência de ácido nucleico de pLW307.

[0326] 81. Um vetor que compreende a sequência de ácido nucleico de pLW291.

[0327] 82. Uma célula que compreende qualquer um dos vetores das modalidades 77 a 81.

[0328] 83. Uma célula que compreende pLW289 e pLW246.

[0329] 84. Uma célula que compreende pLW307 e pLW291.

[0330] 85. Um método para produzir o anticorpo, AA, ou BAA, de qualquer uma das modalidades 1 a 72, em que isto é feito por meio do cultivo de uma célula sob condições que levam à expressão do anticorpo, AA, ou BAA, em que a célula compreende a molécula de ácido nucleico da modalidade 76 ou o vetor de qualquer uma das modalidades 78 a 81.

[0331] 86. Um método para tratar, amenizar um sintoma, ou atrasar o progresso de um distúrbio ou doença que compreende administrar uma quantidade terapêuticamente eficaz do anticorpo, AA, ou BAA de qualquer uma das modalidades 1 a 72, ou a composição farmacêutica de qualquer uma das modalidades 73 a 75 a um indivíduo que necessita do mesmo.

[0332] 87. O método da modalidade 86, em que o distúrbio ou doença compreende células de doença que expressam EGFR.

[0333] 88. O método das modalidades 86 ou 87, em que o distúrbio ou doença é câncer.

[0334] 89. O método da modalidade 88, em que o câncer é câncer anal, carcinoma de célula basal, câncer de cérebro, câncer de bexiga, câncer de mama, câncer ósseo, câncer cervical, colangiocarcinoma, câncer colorretal, câncer de endométrio, câncer esofágico, câncer de vesícula biliar, câncer gástrico, glioblastoma, câncer de cabeça e pescoço, câncer de fígado, câncer de pulmão, câncer de ovário, câncer pancreático, câncer de próstata, câncer renal, sarcoma, carcinoma de intestino delgado, câncer de célula escamosa, câncer de pele, câncer testicular, câncer de tireoide ou câncer uterino.

[0335] 90. Um método para inibir a angiogênese num indivíduo que compreende administrar uma quantidade terapêuticamente eficaz do anticorpo, AA, ou BAA, de qualquer uma das modalidades 1 a 72, ou a composição farmacêutica, de qualquer uma das modalidades 73 a 75, a um indivíduo que necessita do mesmo.

[0336] 91. O método de qualquer uma das modalidades 86 a 90, em que o método compreende administrar um agente adicional.

[0337] 92. O método da modalidade 91, em que o agente adicional é um agente terapêutico.

[0338] 93. Um método para reduzir danos ao tecido saudável causado por um anticorpo que se liga ao seu alvo em tecido saudável, assim como em tecido com doença, em que o método compreende administrar a um indivíduo que necessita do mesmo um AA ou BAA ou uma composição farmacêutica que compreende um AA ou BAA, em que o dito AA ou BAA é um AA ou BAA, de qualquer uma das modalidades fornecidas no presente documento.

[0339] 94. Um método para melhorar a tolerabilidade de um tratamento de anticorpo que compreende administrar a um indivíduo que necessita do mesmo um AA ou BAA ou uma composição farmacêutica que compreende um AA ou BAA, em que o dito AA ou BAA é um AA ou BAA, de qualquer uma das modalidades fornecidas no presente documento.

[0340] 95. Um método para recrutar célula T ao tecido de tumor caracterizado pelo fato de que compreende administrar a um indivíduo que necessita do mesmo um AA ou BAA ou uma composição farmacêutica que compreende um AA ou BAA, em que o dito AA ou BAA é um AA ou BAA de qualquer uma das modalidades fornecidas no presente documento.

[0341] 96. Um anticorpo, AA, ou BAA de qualquer uma das modalidades 1 a 72, ou composição farmacêutica de qualquer uma das modalidades 73 a 75, em que é para ser usado como um medicamento.

[0342] 97. Um anticorpo, AA, ou BAA de qualquer uma das modalidades 1 a 72, ou a composição farmacêutica de qualquer uma das modalidades 73 a 75, em que é para ser usado no método para tratar, amenizar um sintoma, ou atrasar o progresso de um distúrbio ou doença, em que o distúrbio ou doença compreende as células de doença que expressam EGFR.

[0343] 98. Um anticorpo, AA, ou BAA de qualquer uma das modalidades 1 a 72, ou composição farmacêutica de qualquer uma das

modalidades 73 a 75, em que é para ser usado num método para tratar câncer; opcionalmente em que o câncer é câncer anal, carcinoma de célula basal, câncer de cérebro, câncer de bexiga, câncer de mama, câncer ósseo, câncer cervical, colangiocarcinoma, câncer colorretal, câncer de endométrio, câncer esofágico, câncer de vesícula biliar, câncer gástrico, glioblastoma, câncer de cabeça e pescoço, câncer de fígado, câncer de pulmão, câncer de ovário, câncer pancreático, câncer de próstata, câncer renal, sarcoma, carcinoma de intestino delgado, câncer de célula escamosa, câncer de pele, câncer testicular, câncer de tireoide ou câncer uterino.

[0344] 99. Um anticorpo, AA, ou BAA de qualquer uma das modalidades 1 a 72, ou a composição farmacêutica de qualquer uma das modalidades 73 a 75, para uso num método de tratamento, em que o método compreende inibir a angiogênese.

[0345] 100. O anticorpo, AA, ou BAA ou composição farmacêutica para uso de qualquer uma das modalidades 96 a 99, em que o uso compreende administrar um agente adicional, opcionalmente em que o agente adicional é um agente terapêutico.

EXEMPLOS

EXEMPLO 1. SEQUÊNCIAS, CONSTRUÇÃO DE VETOR E EXPRESSÃO DE ANTICORPOS, BAAS E BAAS ATIVADOS

ANTICORPOS DE INTERESSE

[0346] As moléculas conforme fornecido na Tabela 11 abaixo foram construídas e testadas. Conforme indicado, as moléculas ativadas foram produzidas conforme mascaradas e clivadas de modo proteolítico para produzir as formas ativadas.

TABELA 11

Nome de Molécula	Partes de Componente de Molécula	Vetor de Cadeia Pesada	Vetor de Cadeia Leve

Nome de Molécula	Partes de Componente de Molécula	Vetor de Cadeia Pesada	Vetor de Cadeia Leve
CI011	3954-0001-C225v5N297Q-JF15865-0001-CD3LvHv-H-N	pLW023	OPP022
CI020	3954-Nsub-C225v5N297Q-JF15865-Nsub-hSP34LvHv-H-N	pLW073	pLW071
CI040	3954-2001-C225v5N297Q-JF15865-2001-hSP34LvHv-H-N	pLW101	CTX122
CI048	CI011 ativado: 3954-0001-C225v5N297Q-JF15865-0001-CD3LvHv-H-N	pLW023	OPP022
CI079	3954-0001-C225v5Fcmt3-h20GG-0001-v16sc-H-N	pLW225	OPP022
CI090	3954-0001-C225v5Fcmt4-h20GG-0001-v16sc-H-N	pLW233	OPP022
CI090 ativado	3954-0001-C225v5Fcmt4-h20GG-0001-v16sc-H-N ativado	pLW233	OPP022
CI104 ativado	3954-0011-C225v5Fcmt4-h20GG-0011-v16sc-H-N ativado	pLW289	pLW291
CI106	CF41-2008-C225v5Fcmt4-h20GG-0011-v16sc-H-N	pLW289	pLW246
CI107	3954-0011-C225v5Fcmt4-h20GG-2006-v16sc-H-N	pLW307	pLW291
CI127	SynFcmt4-h20GG-0011-v16sc-H-N	pLW334	pLW139
CI128	SynFcmt4-h20GG-2006-v16sc-H-N	pLW335	pLW139
CI135	CF41-2008-C225v5Fcmt4-h20GG-0011-v12sc-H-N	pLW352	pLW246

Nome de Molécula	Partes de Componente de Molécula	Vetor de Cadeia Pesada	Vetor de Cadeia Leve
CI136	CF41-2008-C225v5Fcmt4-h20GG-0011-v19sc-H-N	pLW353	pLW246
CI091	3954-1490DQH-C225v5Fcmt4-h20GG-2008-v16sc-H-N	pLW242	CX320
CI064	SynN297Q-JF15865-0001-hSP34LvHv-H-N	pLW138	pLW139
v12	Variante anti-CD3	HV12	LV12
v16	Variante anti-CD3	HV20	LV12
v19	Variante anti-CD3	HV20	LV19
v26	Variante anti-CD3	HV12	LV19

[0347] As sequências das moléculas e vetores são fornecidos abaixo. Os colchetes denotam algumas das partes de componente das moléculas apresentadas. Em algumas sequências, os ligantes são fornecidos. Os aminoácidos sublinhados denotam sequências de CDR previstas.

CI011: 3954-0001-C225v5N297Q-JF15865-0001-CD3LvHv-H-N

pLW023: HC JF15865-0001-CD3LvHv-C225v5N297Q (H-N)

SEQUÊNCIA DE NUCLEOTÍDEO

[espaçador SEQ ID NO:176][pLW023 sem espaçador SEQ ID NO:177]

CAAGGCCAGTCTGGCCAAATGATGTATTGCGGTGGGAATGAGG
TGTGTGCGGGCCGCGGGTTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTG
GTGGTCTGAGCGGCCGTTCCGATAATCATGGCGGGCGTTCTCAGACCGTG
GTCACACAGGAGCCCTCACTGACAGTGAGCCCTGGCGGGACCGTCACAC
TGACTIONTGTGCGAGTTCAACTGGCGCCGTGACTACCAGCAATTACGCTAACT
GGGTCCAGCAGAAACCAGGACAGGCACCACGAGGACTGATCGGAGGAAC

TAATAAGAGAGCACCAGGAACCCCTGCAAGGTTCTCCGGATCTCTGCTGG
GGGGAAAAGCCGCTCTGACACTGAGCGGCGTGCAGCCTGAGGACGAAGC
TGAGTACTATTGCGCACTGTGGTACTCCAACCTGTGGGTGTTTGGCGGGG
GAACTAAGCTGACCGTCCTGGGAGGAGGAGGAAGCGGAGGAGGAGGGA
GCGGAGGAGGAGGATCCGAAGTGCAGCTGGTTCGAGAGCGGAGGAGGAC
TGGTGCAGCCAGGAGGATCCCTGAAGCTGTCTTGTGCAGCCAGTGGCTTC
ACCTTCAACACTTACGCAATGAACTGGGTGCGGCAGGCACCTGGGAAGGG
ACTGGAATGGGTGCGCCGGATCAGATCTAAATACAATAACTATGCCACCTA
CTATGCTGACAGTGTGAAGGATAGGTTACCATTTACGCGACGATAGCAA
AAACACAGCTTATCTGCAGATGAATAACCTGAAGACCGAGGATACAGCAGT
GTACTATTGCGTCAGACACGGCAATTTGCGGAACTCTTACGTGAGTTGGTT
TGCCTATTGGGGACAGGGGACACTGGTCACCGTCTCCTCAGGAGGTGGT
GGATCCCAGGTGCAGCTGAAACAGAGCGGCCCGGGCCTGGTGCAGCCGA
GCCAGAGCCTGAGCATTACCTGCACCGTGAGCGGCTTTAGCCTGACCAAC
TATGGCGTGCATTGGGTGCGCCAGAGCCCGGGCAAAGGCCTGGAATGGC
TGGGCGTGATTTGGAGCGGCGGCAACACCGATTATAACACCCCGTTTACC
AGCCGCCTGAGCATTAAACAAAGATAACAGCAAAAGCCAGGTGTTTTTTAAA
ATGAACAGCCTGCAAAGCCAGGATACCGCGATTTATTATTGCGCGCGCGC
GCTGACCTATTATGATTATGAATTTGCGTATTGGGGCCAGGGCACCCCTGGT
GACCGTGAGCGCGGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA
CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGG
TCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTTCGTGGAACCTCAGGCGCC
CTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACT
CTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACC
CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGA
CAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTG
CCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCAA
AACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTG
GTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGT
GGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAG

TACCAGAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGA
 CTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCC
 CAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAA
 CCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACC
 AGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCC
 GTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGC
 CTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACC
 GTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGAT
 GCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTC
 CGGGTAAA (SEQ ID NO: 105)

SEQUÊNCIA DE AMINOÁCIDOS

[espaçador SEQ ID NO:178][pLW023 sem espaçador SEQ ID
 NO:179]

QGQSGQ[MMYCGGNEVLCGPRV][GSSGGSGGSGG][LSGRSDNH]
 [GGGS]QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAP
 RGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLW
 VFGGGTKLTVL[GGGGSGGGGSGGGGS]EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSA
 ASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR
 DSKNTAYLQMNKLTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVSS[
 GGGGS]QVQLKQSGPGLVQPSQSLTCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLE
 WLGVIVSGGNTDYNTPTFTRLSINKDNSKQVFFKMNSLQSQDTAIYYCARL
 TYYDYEFAYWGQGLVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
 FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNV
 NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
 TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLT
 VLHQQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV
 KSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 106)

OPP022: LC 3954-0001-C225v5

SEQUÊNCIA DE NUCLEOTÍDEO

[espaçador SEQ ID NO:180][OPP022 sem espaçador SEQ ID NO:181]

TCCGATAATCATGGCAGTAGCGGTACCCAGATCTTGCTGACCCA
 GAGCCCGGTGATTCTGAGCGTGAGCCCGGGCGAACGTGTGAGCTTTAGC
 TGCCGCGCGAGCCAGAGCATTGGCACCAACATTATTGGTATCAGCAGCG
 CACCAACGGCAGCCCGCGCCTGCTGATTAAATATGCGAGCGAAAGCATT
 GCGGCATTCCGAGCCGCTTTAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGATTTTAC
 CCTGAGCATTAAACAGCGTGGAAAGCGAAGATATTGCGGATTATTATTGCCA
 GCAGAACAACAACACTGGCCGACCACCTTTGGCGCGGGCACCAAACTGGAA
 CTGAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGAT
 GAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTC
 TATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATC
 GGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACC
 TACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACA
 CAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCA
 CAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT (SEQ ID NO: 107)

SEQUÊNCIA DE AMINOÁCIDOS

[espaçador SEQ ID NO:178][OPP022 sem espaçador SEQ ID NO:182]

[SDNH][GSSGT][QILLTQSPVILSVSPGERVVSFSCRASQSIGTNIHW
 YQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLINSVESEDIADYYCQ
 QNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR
 EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYAC
 EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 108)

CI020: 3954-Nsub-C225v5N297Q-JF15865-Nsub-hSP34LvHv-H-N

pLW073: HC C225v5N297Q-JF15865-Nsub-hSP34LvHv (H-N)

SEQUÊNCIA DE NUCLEOTÍDEO

[espaçador SEQ ID NO:176][pLW073 sem espaçador SEQ ID NO:183]

CAAGGCCAGTCTGGCCAAATGATGTATTGCGGTGGGAATGAGG

TGTTGTGCGGGCCGCGGGTTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTG
GTGGTGGTGGAGGCTCGGGCGGTGGGAGCGGCGGCGGTTCTCAGACCG
TGGTCACACAGGAGCCCTCACTGACAGTGAGCCCTGGCGGGACCGTCAC
ACTGACTTGTGCGCAGTTCAACTGGCGCCGTGACTACCAGCAATTACGCTAA
CTGGGTCCAGCAGAAACCAGGACAGGCACCACGAGGACTGATCGGAGGA
ACTAATAAGAGAGCACCAGGAACCCCTGCAAGGTTCTCCGGATCTCTGCT
GGGGGGAAAAGCCGCTCTGACACTGAGCGGCGTGCAGCCTGAGGACGAA
GCTGAGTACTATTGCGCACTGTGGTACTCCAACCTGTGGGTGTTTGGCGG
GGGAACTAAGCTGACCGTCCTGGGAGGAGGAGGAAGCGGAGGAGGAGG
GAGCGGAGGAGGAGGATCCGAAGTGCAGCTGGTCGAGAGCGGAGGAGG
ACTGGTGCAGCCAGGAGGATCCCTGAAGCTGTCTTGTGCAGCCAGTGGCT
TCACCTTCAACACTTACGCAATGAACTGGGTGCGGCAGGCACCTGGGAAG
GGACTGGAATGGGTGCGCCGGATCAGATCTAATAACAATAACTATGCCAC
CTACTATGCTGACAGTGTGAAGGATAGGTTCAACCATTTACGCGACGATAG
CAAAAACACAGCTTATCTGCAGATGAATAACCTGAAGACCGAGGATACAGC
AGTGTACTATTGCGTCAGACACGGCAATTTGGGAACTCTTACGTGAGTTG
GTTTGCCTATTGGGGACAGGGGACACTGGTCACCGTCTCCTCAGGAGGTG
GTGGATCCCAGGTGCAGCTGAAACAGAGCGGCCCGGGCCTGGTGCAGCC
GAGCCAGAGCCTGAGCATTACCTGCACCGTGAGCGGCTTTAGCCTGACCA
ACTATGGCGTGCATTGGGTGCGCCAGAGCCCGGGCAAAGGCCTGGAATG
GCTGGGCGTGATTTGGAGCGGCGGCAACACCGATTATAACACCCCGTTTA
CCAGCCGCCTGAGCATTAAACAAAGATAACAGCAAAGCCAGGTGTTTTTTA
AAATGAACAGCCTGCAAAGCCAGGATACCGCGATTTATTATTGCGCGCGC
GCGCTGACCTATTATGATTATGAATTTGCGTATTGGGGCCAGGGCACCCCT
GGTGACCGTGAGCGCGGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTG
GCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCC
TGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGC
GCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAG
GACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGC
ACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGT

GGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACC
 GTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTTCCCCC
 CAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGC
 GTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTA
 CGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAG
 CAGTACCAGAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCA
 GGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCC
 TCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGA
 GAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGA
 ACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATC
 GCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCA
 CGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTC
 ACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCG
 TGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTG
 TCTCCGGGTAAA (SEQ ID NO: 109)

SEQUÊNCIA DE AMINOÁCIDOS

[espaçador SEQ ID NO:178][pLW073 sem espaçador SEQ ID
 NO:184]

QGQSGQ[MMYCGGNEVLCGPRV][GSSGGSGGSGGGGGSGGGS
 GGGG]QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAP
 RGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYICALWYSNLW
 VFGGGTKLTVL[GGGGSGGGSGGGGS]EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSA
 ASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR
 DSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVSS[
 GGGGS]QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKLE
 WLGVIWSSGNTDYNTPTFSLRSINKDNSKSQVFFKMNSLQSQDTAIYYCARL
 TYYDYEFAYWGQGLVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
 FPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV
 NHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
 TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLT

VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVD
 KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 110)

pLW071: LC 3954-Nsub-C225v5

SEQUÊNCIA DE NUCLEOTÍDEO

[espaçador SEQ ID NO:180][pLW071 sem espaçador SEQ ID
 NO:185]

CAAGGCCAGTCTGGCCAGTGCATCTCACCTCGTGGTTGTCCGG
 ACGGCCCATACGTCATGTACGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGG
 TGGCTCAGGTGGAGGCTCGGGCGGTGGGAGCGGCGGTTCTGATATCTTG
 CTGACCCAGAGCCCGGTGATTCTGAGCGTGAGCCCGGGCGAACGTGTGA
 GCTTTAGCTGCCGCGCGAGCCAGAGCATTGGCACCAACATTATTGGTAT
 CAGCAGCGCACCAACGGCAGCCCGCGCCTGCTGATTAATATGCGAGCG
 AAAGCATTAGCGGCATTCCGAGCCGCTTTAGCGGCAGCGGCAGCGGCAC
 CGATTTTACCCTGAGCATTAAACAGCGTGGAAAGCGAAGATATTGCGGATTA
 TTATTGCCAGCAGAACAACAACACTGGCCGACCACCTTTGGCGCGGGCACCA
 AACTGGAACACTGAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGC
 CATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTCTGTTGTGTGCCTGCTGA
 ATAACCTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCC
 CTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGA
 CAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACG
 AGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCG
 CCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT (SEQ ID NO: 111)

SEQUÊNCIA DE AMINOÁCIDOS

[espaçador SEQ ID NO:178][pLW071 sem espaçador SEQ ID
 NO:186]

QGQSGQ[CISPRGCPDGPYVMY][GSSGGSGGSGGSGGGSGGGS
 GGS]DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHWYQQRNNGSPRLLIKYA
 SESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYQCQQNNNWPTTFGAGTKL
 ELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG

NSQESVTEQDSKDYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN
RGEC (SEQ ID NO: 112)

CI040: 3954-2001-C225v5N297Q-JF15865-2001-hSP34LvHv-H-N

pLW101: HC JF15865-2001-CD3LvHv-C225v5N297Q (H-N)

SEQUÊNCIA DE NUCLEOTÍDEO

[espaçador SEQ ID NO:176][pLW101 sem espaçador SEQ ID
NO:187]

CAAGGCCAGTCTGGCCAAATGATGTATTGCGGTGGGAATGAGG
TGTTGTGCGGGCCGCGGGTTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTG
GTGGTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAATCACGGCGGC
GGTTCAGACCGTGGTCACACAGGAGCCCTCACTGACAGTGAGCCCTGG
CGGGACCGTCACACTGACTTGTGCGAGTTCAACTGGCGCCGTGACTACCA
GCAATTACGCTAACTGGGTCCAGCAGAAACCAGGACAGGCACCACGAGGA
CTGATCGGAGGAACTAATAAGAGAGCACCAGGAACCCCTGCAAGGTTCTC
CGGATCTCTGCTGGGGGGAAAAGCCGCTCTGACACTGAGCGGCGTGCAG
CCTGAGGACGAAGCTGAGTACTATTGCGCACTGTGGTACTCCAACCTGTG
GGTGTGGCGGGGGAACTAAGCTGACCGTCCTGGGAGGAGGAGGAAGC
GGAGGAGGAGGGAGCGGAGGAGGATCCGAAGTGCAGCTGGTTCGAG
AGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGATCCCTGAAGCTGTCTTGTG
CAGCCAGTGGCTTCACCTTCAACACTTACGCAATGAACTGGGTGCGGCAG
GCACCTGGGAAGGGACTGGAATGGGTGCGCCCGGATCAGATCTAAATACAA
TAACTATGCCACCTACTATGCTGACAGTGTGAAGGATAGGTTACCATTTT
ACGCGACGATAGCAAAAACACAGCTTATCTGCAGATGAATAACCTGAAGAC
CGAGGATACAGCAGTGTACTATTGCGTCAGACACGGCAATTTTCGGGAACT
CTTACGTGAGTTGGTTTGCCTATTGGGGACAGGGGACACTGGTCACCGTC
TCCTCAGGAGGTGGTGGATCCCAGGTGCAGCTGAAACAGAGCGGCCCGG
GCCTGGTGCAGCCGAGCCAGAGCCTGAGCATTACCTGCACCGTGAGCGG
CTTTAGCCTGACCAACTATGGCGTGCATTGGGTGCGCCAGAGCCCGGGCA
AAGGCCTGGAATGGCTGGGCGTGATTTGGAGCGGCGGCAACACCGATTA
TAACACCCCGTTTACCAGCCGCCTGAGCATTAAACAAAGATAACAGCAAAAG

CCAGGTGTTTTTTAAAATGAACAGCCTGCAAAGCCAGGATACCGCGATTTA
 TTATTGCGCGCGCGCGCTGACCTATTATGATTATGAATTTGCGTATTGGGG
 CCAGGGCACCCCTGGTGACCGTGAGCGCGGCTAGCACCAAGGGCCCATCG
 GTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGG
 CCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTC
 GTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTC
 CTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC
 CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA
 GCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAT
 CACACATGCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAG
 TCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCC
 CTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGT
 CAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAA
 AGCCGCGGGAGGAGCAGTACCAGAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCT
 CACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAG
 GTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGC
 CAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGG
 GAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTT
 CTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAG
 AACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTT
 CCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAAC
 GTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCA
 GAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTA (SEQ ID NO: 113)

SEQUÊNCIA DE AMINOÁCIDOS

[espaçador SEQ ID NO:178][pLW101 sem espaçador SEQ ID
 NO:188]

QGQSGQ[MMYCGGNEVLCGPRV][GSSGGSGGSGG][ISSGLLSGR
 SDNH][GGGS]QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQKP
 GQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWY
 SNLWVFGGGTKLTVL[GGGGSGGGSGGGGS]EVQLVESGGGLVQPGGSLK

LSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRF
 TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLV
 TVSS[GGGGS]QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSP
 GKGLEWLGVIWSSGNTDYNTPTFSTRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSQDTAIY
 YCARALTYDYEFAYWGQGLVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG
 CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT
 QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK
 DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTY
 RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP
 SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFF
 LYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:
 114)

CTX122: LC 3954-2001-C225v5

SEQUÊNCIA DE NUCLEOTÍDEO

[espaçador SEQ ID NO:180][CTX122 sem espaçador SEQ ID
 NO:189]

CAAGGCCAGTCTGGCCAGTGCATCTCACCTCGTGGTTGTCCGG
 ACGGCCCATACGTACGTACGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGG
 TGGATCCGGTATTAGCAGTGGTCTGTAAAGCGGTCGTAGCGATAATCATG
 GCAGTAGCGGTACCCAGATCTTGCTGACCCAGAGCCCGGTGATTCTGAGC
 GTGAGCCCGGGCGAACGTGTGAGCTTTAGCTGCCGCGCGAGCCAGAGCA
 TTGGCACCAACATTATTGGTATCAGCAGCGCACCAACGGCAGCCCGCGC
 CTGCTGATTAATATGCGAGCGAAAGCATTAGCGGCATTCCGAGCCGCTTT
 AGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGATTTTACCCTGAGCATTAAACAGCGTGG
 AAAGCGAAGATATTGCGGATTATTATTGCCAGCAGAACAACAACACTGGCCGA
 CCACCTTTGGCGCGGGCACCAAACTGGAACACTGAAACGTACGGTGGCTGCA
 CCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAC
 GCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTA
 CAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGT
 CACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTG

ACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGT
CACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGA
GAGTGT (SEQ ID NO: 115)

SEQUÊNCIA DE AMINOÁCIDOS

[espaçador SEQ ID NO:178][CTX122 sem espaçador SEQ ID
NO:190]

QGQSGQ[CISPRGCPDGPYVMY][GSSGGSGGSGGSG][ISSGLLSG
RSDNH][GSSGT]QILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHWYQQRNG
SPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLINSVESEDIADYYCQQNNNWPT
TFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFYPREAKVQWK
VDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYEEKHKVYACEVTHQGL
SSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 116)

CI048: CI011 ativado: 3954-0001-C225v5N297Q-JF15865-0001-
CD3LvHv-H-N

As sequências pLW023 e OPP022 que codificam os componentes de anticorpo mascarados correspondentes são fornecidas no presente documento como “pLW023” e “OPP022”, respectivamente, e são resumidas na Tabela 11.

pLW023 ativado: HC JF15865-0001-CD3LvHv-C225v5N297Q (H-N)

SEQUÊNCIA DE NUCLEOTÍDEO

TCCGATAATCATGGCGGCGGTTCTCAGACCGTGGTCACACAGG
AGCCCTCACTGACAGTGAGCCCTGGCGGGACCGTCACACTGACTTGTTCGC
AGTTCAACTGGCGCCGTGACTACCAGCAATTACGCTAACTGGGTCCAGCA
GAAACCAGGACAGGCACCACGAGGACTGATCGGAGGAACTAATAAGAGA
GCACCAGGAACCCCTGCAAGGTTCTCCGGATCTCTGCTGGGGGGAAAAG
CCGCTCTGACACTGAGCGGCGTGCAGCCTGAGGACGAAGCTGAGTACTAT
TGCGCACTGTGGTACTCCAACCTGTGGGTGTTTGGCGGGGGAACTAAGCT
GACCGTCCTGGGAGGAGGAGGAAGCGGAGGAGGAGGGAGCGGAGGAGG
AGGATCCGAAGTGCAGCTGGTCGAGAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCA
GGAGGATCCCTGAAGCTGTCTTGTGCAGCCAGTGGCTTCACCTTCAACAC

TTACGCAATGAACTGGGTGCGGCAGGCACCTGGGAAGGGACTGGAATGG
GTCGCCCCGGATCAGATCTAAATAACAATAACTATGCCACCTACTATGCTGAC
AGTGTGAAGGATAGGTTACCATTTACGCGACGATAGCAAAAACACAGCT
TATCTGCAGATGAATAACCTGAAGACCGAGGATACAGCAGTGTACTATTGC
GTCAGACACGGCAATTTGCGGAACTCTTACGTGAGTTGGTTTGCCTATTGG
GGACAGGGGACACTGGTCACCGTCTCCTCAGGAGGTGGTGGATCCCAGG
TGCAGCTGAAACAGAGCGGCCCGGGCCTGGTGCAGCCGAGCCAGAGCCT
GAGCATTACCTGCACCGTGAGCGGCTTTAGCCTGACCAACTATGGCGTGC
ATTGGGTGCGCCAGAGCCCCGGGCAAAGGCCTGGAATGGCTGGGCGTGAT
TTGGAGCGGCGGCAACACCGATTATAACACCCCGTTTACCAGCCGCCTGA
GCATTAACAAAGATAACAGCAAAAGCCAGGTGTTTTTTAAAATGAACAGCC
TGCAAAGCCAGGATACCGCGATTTATTATTGCGCGCGCGCGCTGACCTAT
TATGATTATGAATTTGCGTATTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTGAG
CGCGGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCC
AAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACT
ACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTGCTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAG
CGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCC
TCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTA
CATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAG
TTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCCAGCA
CCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTTCTTCCCCCAAACCCAA
GGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTG
GACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACG
GCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACCA
GAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGG
CTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGC
CCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAC
AGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGT
CAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGG
AGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCC

CGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGG
 ACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCAT
 GAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGG
 TAAA (SEQ ID NO: 117)

SEQUÊNCIA DE AMINOÁCIDOS

[SDNH][GGGS]QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYA
 NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEA
 EYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL[GGGGSGGGGSGGGGS]EVQLVESGGGL
 VQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYY
 ADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAY
 WGQGLTVTVSS[GGGGG]QVQLKQSGPGLVQPSQSLTCTVSGFSLTNYGV
 HWVRQSPGKGLEWLGVIWSSGNTDYNTPTFTRLSINKDNSKSKVFFKMNSL
 QSQDTAIYYCARALTYDYEFAYWGQGLTVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTS
 GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV
 PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF
 LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
 EQYQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
 QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL
 DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
 (SEQ ID NO: 118)

OPP022 ativado: LC 3954-0001-C225v5

SEQUÊNCIA DE NUCLEOTÍDEO

TCCGATAATCATGGCAGTAGCGGTACCCAGATCTTGCTGACCCA
 GAGCCCGGTGATTCTGAGCGTGAGCCCGGGCGAACGTGTGAGCTTTAGC
 TGCCGCGCGAGCCAGAGCATTGGCACCAACATTATTGGTATCAGCAGCG
 CACCAACGGCAGCCCGCGCCTGCTGATTAAATATGCGAGCGAAAGCATT
 GCGGCATTCCGAGCCGCTTTAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGATTTTAC
 CCTGAGCATTAAACAGCGTGGAAAGCGAAGATATTGCGGATTATTATTGCCA
 GCAGAACAACAACACTGGCCGACCACCTTTGGCGCGGGCACCAAACACTGGAA
 CTGAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGAT

GAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTC
 TATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATC
 GGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACC
 TACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACA
 CAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCA
 CAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT (SEQ ID NO: 119)

SEQUÊNCIA DE AMINOÁCIDOS

[SDNH][GSSGT]QILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHWY
 QQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLINSVESEDIADYYCQQ
 NNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE
 AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE
 VTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 120)

CI079: 3954-0001-C225v5Fcmt3-h20GG-0001-v16sc-H-N

pLW225: HC h20GG-0001-v16sc-C225v5Fcmt3 (H-N)

SEQUÊNCIA DE NUCLEOTÍDEO

[espaçador SEQ ID NO:191][pLW225_sem espaçador SEQ ID
 NO:192]

CAAGGCCAGTCTGGATCCGGTTATCTGTGGGGTTGCGAGTGGA
 ATTGCGGAGGGATCACTACAGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGG
 TGGTCTGAGCGGCCGTTCCGATAATCATGGCGGCGGTTCTCAAAGTGTAG
 TAACTCAAGAACCAAGCTTCTCCGTCTCCCCTGGGGGAACAGTCACACTTA
 CCTGCCGAAGTAGTACAGGTGCTGTTACGACCAGTAACTATGCCAATTGG
 GTACAACAAACGCCTGGTCAGGCTCCGCGCGGATTGATAGGAGGCACGA
 ATAAACGGGCACCCGGTGTCCCGGACAGATTCAGCGGAAGCATACTCGGT
 AATAAGGCAGCTCTTACTATCACTGGGGCCCAAGCTGATGATGAAAGTGAT
 TATTATTGTGCGCTCTGGTACAGCAACCTCTGGGTGTTTGGGGGTGGCAC
 GAACTTACTGTCTTGGGCGGCGGCGGATCAGGGGGAGGTGGCTCTGGA
 GGAGGAGGCTCAGAAGTCCAAGTGGTCAATCCGGGGGAGGGCTCGTAC
 AGCCGGGTGGGTCCCTCAAAGTCTCTTGTGCGGCCTCAGGGTTTACCTTC
 AGTACATACGCGATGAATTGGGTCCGGCAGGCCAGTGGGAAAGGGCTCG

AATGGGTAGGACGAATCCGATCAAATACAACAACACTACGCTACTTATTACG
CTGATTCCGTGAAGGACAGATTCACAATATCCCGCGACGATAGCAAGAATA
CGGCATATCTTCAGATGAATTCTCTTAAACTGAGGATACCGCTGTGTATTA
CTGCACAAGACATGGTAATTTTGGAACTCATATGTCTCTTGGTTCGCTTAT
TGGGGACAGGGCACGTTGGTTACCGTGTCTAGCGGAGGTGGTGGATCCC
AGGTGCAGCTGAAACAGAGCGGCCCGGGCCTGGTGCAGCCGAGCCAGA
GCCTGAGCATTACCTGCACCGTGAGCGGCTTTAGCCTGACCAACTATGGC
GTGCATTGGGTGCGCCAGAGCCCGGGCAAAGGCCTGGAATGGCTGGGCG
TGATTTGGAGCGGCGGCAACACCGATTATAACACCCCGTTTACCAGCCGC
CTGAGCATTAAACAAAGATAACAGCAAAGCCAGGTGTTTTTTAAATGAAC
AGCCTGCAAAGCCAGGATACCGCGATTTATTATTGCGCGCGCGCGCTGAC
CTATTATGATTATGAATTTGCGTATTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGT
GAGCGCGGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCC
TCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGG
ACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTGCTGGAACACTCAGGCGCCCTGACC
AGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTC
CCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACC
TACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAA
AGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACACTCACACATGCCACCGTGCCCAG
CACCTGAATTTGAAGGGGGACCGTCAGTCTTCTTCTTCCCCCAAACCC
AAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGT
GGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGAC
GGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACA
ATAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGG
CTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGC
CTCAATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAC
AGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGT
CAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGG
AGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCC
CGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTTCTTCTACAGCAAGCTCACCGTGG

ACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCAT
 GAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGG
 TAAATGA (SEQ ID NO: 121)

SEQUÊNCIA DE AMINOÁCIDOS

[espaçador SEQ ID NO:178][pLW225_sem espaçador SEQ ID
 NO:193]

QQQSGS[GylWGCEWNCGGITT][GSSGGSGGSGG][LSGRSDNH][
 GGS]QTVVTQEFSFSVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQTPGQAP
 RGLIGGTNKRAPGVPDRFSGSILGNKAALTITGAQADDES DYICALWYSNLW
 VFGGGTKLTVL[GGGGSGGGGSGGGGS]EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCA
 ASGFTFSTYAMNWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR
 DSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRHGNGNSYVSWFAYWGQGLVTVSS[
 GGGGS]QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLE
 WLGVIVSGGNTDYNTPFTRSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSQDTAIYYCARL
 TYYDYEFAYWGQGLVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
 FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV
 NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
 TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
 VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD
 KSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 122)

OPP022: LC 3954-0001-C225v5

SEQUÊNCIAS FORNECIDAS ACIMA

CI090: 3954-0001-C225v5Fcmt4-h20GG-0001-v16sc-H-N

pLW233: HC h20GG-0001-v16sc-C225v5Fcmt4 (H-N)

SEQUÊNCIA DE NUCLEOTÍDEO

[espaçador SEQ ID NO:191][pLW233_sem espaçador SEQ ID
 NO:194]

CAAGGCCAGTCTGGATCCGGTTATCTGTGGGGTTGCGAGTGGA
 ATTGCGGAGGGATCACTACAGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGG

TGGTCTGAGCGGCCGTTCCGATAATCATGGCGGCGGTTCTCAAACGTAG
TAACTCAAGAACCAAGCTTCTCCGTCTCCCCTGGGGGAACAGTCACACTTA
CCTGCCGAAGTAGTACAGGTGCTGTTACGACCAGTAACTATGCCAATTGG
GTACAACAAACGCCTGGTCAGGCTCCGCGCGGATTGATAGGAGGCACGA
ATAAACGGGCACCCGGTGTCCCGGACAGATTCAGCGGAAGCATACTCGGT
AATAAGGCAGCTCTTACTATCACTGGGGCCCAAGCTGATGATGAAAGTGAT
TATTATTGTGCGCTCTGGTACAGCAACCTCTGGGTGTTTGGGGGTGGCAC
GAAACTTACTGTCTTGGGCGGCGGCGGATCAGGGGGAGGTGGCTCTGGA
GGAGGAGGCTCAGAAGTCCAACCTGGTCTGAATCCGGGGGAGGGCTCGTAC
AGCCGGGTGGGTCCCTCAAACCTCTCTTGTGCGGCCTCAGGGTTTACCTTC
AGTACATACGCGATGAATTGGGTCCGGCAGGCCAGTGGGAAAGGGCTCG
AATGGGTAGGACGAATCCGATCAAATAACAACACTACGCTACTTATTACG
CTGATTCCGTGAAGGACAGATTCACAATATCCCGCGACGATAGCAAGAATA
CGGCATATCTTCAGATGAATTCTCTTAAACTGAGGATACCGCTGTGTATTA
CTGCACAAGACATGGTAATTTTGGAACTCATATGTCTCTTGGTTCGCTTAT
TGGGGACAGGGCACGTTGGTTACCGTGTCTAGCGGAGGTGGTGGATCCC
AGGTGCAGCTGAAACAGAGCGGCCCGGGCCTGGTGCAGCCGAGCCAGA
GCCTGAGCATTACCTGCACCGTGAGCGGCTTTAGCCTGACCAACTATGGC
GTGCATTGGGTGCGCCAGAGCCCGGGCAAAGGCCTGGAATGGCTGGGCG
TGATTTGGAGCGGCGGCAACACCGATTATAACACCCCGTTTACCAGCCGC
CTGAGCATTAAACAAAGATAACAGCAAAGCCAGGTGTTTTTTAAATGAAC
AGCCTGCAAAGCCAGGATACCGCGATTTATTATTGCGCGCGCGCGCTGAC
CTATTATGATTATGAATTTGCGTATTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGT
GAGCGCGGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCC
TCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGG
ACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTGCTGGAACCTCAGGCGCCCTGACC
AGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTC
CCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACC
TACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAA
AGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCCAG

CACCTGAATTTGAAGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCAAACCC
 AAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGT
 GGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGAC
 GGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACC
 AGAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTG
 GCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAG
 CCTCAATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCA
 CAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGG
 TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTG
 GAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTC
 CCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTG
 GACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA
 TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGG
 GTAAATGA (SEQ ID NO: 123)

SEQUÊNCIA DE AMINOÁCIDOS

[espaçador SEQ ID NO:178][pLW233_sem espaçador SEQ ID
 NO:195]

QQQSGS[GYLWGCEWNCGGITT][GSSGGSGGSGG][LSGRSDNH][
 GGG]QTVVTQEFSFSVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQTPGQAP
 RGLIGGTNKRAPGVPDRFSGSILGNKAALTITGAQADDES DYICALWYSNLW
 VFGGGTKLTVL[GGGGSGGGGSGGGGS]EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSA
 ASGFTFSTYAMNWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR
 DSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRHGNGNSYVSWFAYWGQGLVTVSS[
 GGGGS]QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGL
 WLGVIVSGGNTDYNTPTFTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSQDTAIYYCAR
 LTYDYEFAYWGQGLVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
 FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV
 NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
 TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLT
 VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK

NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 124)

OPP022: LC 3954-0001-C225v5

Sequências fornecidas acima

CI090 ativado: 3954-0001-C225v5Fcmt4-h20GG--0001-v16sc-H-N

ativado

pLW233 ativado: HC C225v5Fcmt4-h20GG-0001-v16sc (H-N)

SEQUÊNCIA DE ÁCIDO NUCLEICO

TCCGATAATCATGGCGGCGGTTCTCAAACGTAGTAACTCAAGA
ACCAAGCTTCTCCGTCTCCCCTGGGGGAACAGTCACACTTACCTGCCGAA
GTAGTACAGGTGCTGTTACGACCAGTAACTATGCCAATTGGGTACAACAAA
CGCCTGGTCAGGCTCCGCGCGGATTGATAGGAGGCACGAATAAACGGGC
ACCCGGTGTCCCGGACAGATTCAGCGGAAGCATACTCGGTAATAAGGCAG
CTCTTACTATCACTGGGGCCCAAGCTGATGATGAAAGTGATTATTATTGTG
CGCTCTGGTACAGCAACCTCTGGGTGTTTGGGGGTGGCACGAACTTACT
GTCTTGGGCGGCGGCGGATCAGGGGGAGGTGGCTCTGGAGGAGGAGGC
TCAGAAGTCCAACCTGGTCCAATCCGGGGGAGGGCTCGTACAGCCGGGTG
GGTCCCTCAAACCTCTCTTGTGCGGCCTCAGGGTTTACCTTCAGTACATACG
CGATGAATTGGGTCCGGCAGGCCAGTGGGAAAGGGCTCGAATGGGTAGG
ACGAATCCGATCAAATAACAACACTACGCTACTTATTACGCTGATTCCGT
GAAGGACAGATTACAATATCCCGCGACGATAGCAAGAATACGGCATACTCT
TCAGATGAATTCTTTAAACTGAGGATACCGCTGTGTATTACTGCACAAG
ACATGGTAATTTTGGAACTCATATGTCTCTTGGTTCGCTTATTGGGGACA
GGGCACGTTGGTTACCGTGTCTAGCGGAGGTGGTGGATCCCAGGTGCAG
CTGAAACAGAGCGGCCCGGGCCTGGTGCAGCCGAGCCAGAGCCTGAGCA
TTACCTGCACCGTGAGCGGCTTTAGCCTGACCAACTATGGCGTGCATTGG
GTGCGCCAGAGCCCGGGCAAAGGCCTGGAATGGCTGGGCGTGATTTGGA
GCGGCGGCAACACCGATTATAACACCCCGTTTACCAGCCGCCTGAGCATT
AACAAAGATAACAGCAAAGCCAGGTGTTTTTTAAATGAACAGCCTGCAA
AGCCAGGATACCGCGATTTATTATTGCGCGCGCGCGCTGACCTATTATGAT

TATGAATTTGCGTATTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTGAGCGCGG
CTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGC
ACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCC
CCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGGCGT
GCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCA
GCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTG
CAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGC
CCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCCAGCACCTGAAT
TTGAAGGGGGACCGTCAGTCTTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACC
CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAG
CCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAG
GTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACCAGAGCACGT
ACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGC
AAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCTCAATCGA
GAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACA
CCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGAC
CTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGA
GCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGA
CTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCA
GGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTG
CACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA (SEQ
ID NO: 164

SEQUÊNCIA DE AMINOÁCIDOS

[SDNH]GGGSQTVVTQEPSFSVSPGGTVLTCRSSTGAVTTSNYAN
WVQQTPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPDFRSGSILGNKAALTITGAQADDES
DYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQP
GGSLKLSAASGFTFSTYAMNWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADS
VKDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRHGNGNSYVSWFAYWG
QGTLVTVSSGGGGSQVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVHWV
RQSPGKGLEWLGVIWSSGGNTDYNTPTFTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSQD

TAIYYCARALTYDYEFAYWGQGLVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA
 ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL
 GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPP
 KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQ
 STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIIEKTISKAKGQPREPQVYT
 LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG
 SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID
 NO: 165)

OPP022 ativado: 3954-0001-C225v5

SEQUÊNCIA DE ÁCIDO NUCLEICO

TCCGATAATCATGGCAGTAGCGGTACCCAGATCTTGCTGACCCA
 GAGCCCGGTGATTCTGAGCGTGAGCCCGGGCGAACGTGTGAGCTTTAGC
 TGCCGCGCGAGCCAGAGCATTGGCACCAACATTATTGGTATCAGCAGCG
 CACCAACGGCAGCCCGCGCCTGCTGATTAAATATGCGAGCGAAAGCATT
 GCGGCATTCCGAGCCGCTTTAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGATTTTAC
 CCTGAGCATTAAACAGCGTGGAAGCGAAGATATTGCGGATTATTATTGCCA
 GCAGAACAACTGGCCGACCACCTTTGGCGCGGGCACCAAACCTGGAA
 CTGAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGAT
 GAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTC
 TATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATC
 GGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACC
 TACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACA
 CAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCA
 CAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT (SEQ ID NO: 166)

SEQUÊNCIA DE AMINOÁCIDOS

[SDNH]GSSGTQILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHWY
 QQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLINSVESEDIADYYCQQ
 NNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE
 AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE
 VTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 167)

CI104: 3954-0011-C225v5Fcmt4-h20GG-0011-v16sc-H-N

As sequências pLW289 e pLW291 que codificam os componentes de anticorpo mascarados correspondentes são fornecidas no presente documento como “pLW289” e “pLW291”, respectivamente, e são resumidas na Tabela 11.

CI104 ativado: 3954-0011-C225v5Fcmt4-h20GG-0011-v16sc-H-N

pLW289 ativado: HC h20GG-0011-v16sc-C225v5Fcmt4 (H-N)

SEQUÊNCIA DE NUCLEOTÍDEO

TCCGATGATCATGGCGGCGGTTCTCAAAGTGTAGTAACTCAAGA
ACCAAGCTTCTCCGTCTCCCCTGGGGGAACAGTCACACTTACCTGCCGAA
GTAGTACAGGTGCTGTTACGACCAGTAACTATGCCAATTGGGTACAACAAA
CGCCTGGTCAGGCTCCGCGCGGATTGATAGGAGGCACGAATAAACGGGC
ACCCGGTGTCCCGGACAGATTCAGCGGAAGCATACTCGGTAATAAGGCAG
CTCTTACTATCACTGGGGCCCAAGCTGATGATGAAAGTGATTATTATTGTG
CGCTCTGGTACAGCAACCTCTGGGTGTTTGGGGGTGGCACGAACTTACT
GTCTTGGGCGGCGGCGGATCAGGGGGAGGTGGCTCTGGAGGAGGAGGC
TCAGAAGTCCAAGTGGTGAATCCGGGGGAGGGCTCGTACAGCCGGGTG
GGTCCCTCAAAGTCTCTTGTGCGGCCTCAGGGTTTACCTTCAGTACATACG
CGATGAATTGGGTCCGGCAGGCCAGTGGGAAAGGGCTCGAATGGGTAGG
ACGAATCCGATCAAATAACAACACTACGCTACTTATTACGCTGATTCCGT
GAAGGACAGATTACAATATCCCGCGACGATAGCAAGAATACGGCATACT
TCAGATGAATTCTTTAAAGTGGAGTACCGCTGTGTATTACTGCACAAG
ACATGGTAATTTTGGAACTCATATGTCTCTTGGTTCGCTTATTGGGGACA
GGGCACGTTGGTTACCGTGTCTAGCGGAGGTGGTGGATCCCAGGTGCAG
CTGAAACAGAGCGGCCCGGGCCTGGTGCAGCCGAGCCAGAGCCTGAGCA
TTACCTGCACCGTGAGCGGCTTTAGCCTGACCAACTATGGCGTGCATTGG
GTGCGCCAGAGCCCGGGCAAAGGCCTGGAATGGCTGGGCGTGATTTGGA
GCGGCGGCAACACCGATTATAACACCCCGTTTACCAGCCGCCTGAGCATT
AACAAAGATAACAGCAAAGCCAGGTGTTTTTTAAATGAACAGCCTGCAA
AGCCAGGATACCGCGATTTATTATTGCGCGCGCGCGCTGACCTATTATGAT

TATGAATTTGCGTATTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTGAGCGCGG
 CTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGC
 ACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCC
 CCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGGCGT
 GCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCA
 GCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTG
 CAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGC
 CCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCCAGCACCTGAAT
 TTGAAGGGGGACCGTCAGTCTTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACC
 CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAG
 CCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAG
 GTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACCAGAGCACGT
 ACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGC
 AAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCTCAATCGA
 GAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACA
 CCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGAC
 CTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGA
 GCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGA
 CTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCA
 GGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTG
 CACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA (SEQ
 ID NO: 125)

SEQUÊNCIA DE AMINOÁCIDOS

[SDDH][GGGS]QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYA
 NWVQQTPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPRDFSGSILGNKAALTITGAQADDES
 YYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL][GGGGSGGGGSGGGGS]EVQLVESGGGL
 VQPGGSLKLSAASGFTTFSTYAMNWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYY
 ADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRHGNGNSYVSWFAY
 WGQGLTVTVSS][GGGG]QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLTNYGV
 HWVRQSPGKLEWLGVIWSSGNTDYNTPTFTRLSINKDNSKSKVFFKMNSL

QSQDTAIYYCARALTYDYEFAYWGQGLVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTS
 GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV
 PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSV
 FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
 EEQYQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPRE
 PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPV
 LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
 (SEQ ID NO: 126)

pLW291 ativado: LC 3954-0011-C225v5

SEQUÊNCIA DE NUCLEOTÍDEO

TCCGATGATCATGGCAGTAGCGGTACCCAGATCTTGCTGACCC
 AGAGCCCGGTGATTCTGAGCGTGAGCCCGGGCGAACGTGTGAGCTTTAG
 CTGCCGCGCGAGCCAGAGCATTGGCACCAACATTCATTGGTATCAGCAGC
 GCACCAACGGCAGCCCGCGCCTGCTGATTAATATGCGAGCGAAAGCATT
 AGCGGCATTCCGAGCCGCTTTAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGATTTTA
 CCCTGAGCATTAAACAGCGTGGAAAGCGAAGATATTGCGGATTATTATTGCC
 AGCAGAACAACAACACTGGCCGACCACCTTTGGCGCGGGCACCAAACTGGAA
 CTGAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGAT
 GAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTC
 TATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATC
 GGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACC
 TACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACA
 CAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCA
 CAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT (SEQ ID NO: 127)

SEQUÊNCIA DE AMINOÁCIDOS

[SDDH][GSSGT]QILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHWY
 QQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLINSVESEDIADYYCQQ
 NNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE
 AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACE
 VTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 128)

CI106: CF41-2008-C225v5Fcmt4-h20GG-0011-v16sc-H-N

pLW289: HC h20GG-0011-v16sc-C225v5Fcmt4 (H-N)

SEQUÊNCIA DE NUCLEOTÍDEO

[espaçador SEQ ID NO:191][pLW289 sem espaçador SEQ ID NO:196]

CAAGGCCAGTCTGGATCCGGTTATCTGTGGGGTTGCGAGTGGA
ATTGCGGAGGGATCACTACAGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGG
TGGTCTGAGCGGCCGTTCCGATGATCATGGCGGCGGTTCTCAAAGTGTAG
TAACTCAAGAACCAAGCTTCTCCGTCTCCCCTGGGGGAACAGTCACACTTA
CCTGCCGAAGTAGTACAGGTGCTGTTACGACCAGTAACTATGCCAATTGG
GTACAACAAACGCCTGGTCAGGCTCCGCGCGGATTGATAGGAGGCACGA
ATAAACGGGCACCCGGTGTCCCGGACAGATTCAGCGGAAGCATACTCGGT
AATAAGGCAGCTCTTACTATCACTGGGGCCCAAGCTGATGATGAAAGTGAT
TATTATTGTGCGCTCTGGTACAGCAACCTCTGGGTGTTTGGGGGTGGCAC
GAACTTACTGTCTTGGGCGGCGGCGGATCAGGGGGAGGTGGCTCTGGA
GGAGGAGGCTCAGAAGTCCAAGTGGTGAATCCGGGGGAGGGCTCGTAC
AGCCGGGTGGGTCCCTCAAAGTCTCTTGTGCGGCCTCAGGGTTTACCTTC
AGTACATACGCGATGAATTGGGTCCGGCAGGCCAGTGGGAAAGGGCTCG
AATGGGTAGGACGAATCCGATCAAAATACAACAAGTACGCTACTTATTACG
CTGATTCCGTGAAGGACAGATTCACAATATCCCGCGACGATAGCAAGAATA
CGGCATATCTTCAGATGAATTCTCTTAAAGTGGGATACCGCTGTGTATTA
CTGCACAAGACATGGTAATTTTGGAAACTCATATGTCTCTTGGTTCGCTTAT
TGGGGACAGGGCACGTTGGTTACCGTGTCTAGCGGAGGTGGTGGATCCC
AGGTGCAGCTGAAACAGAGCGGCCCGGGCCTGGTGCAGCCGAGCCAGA
GCCTGAGCATTACCTGCACCGTGAGCGGCTTTAGCCTGACCAACTATGGC
GTGCATTGGGTGCGCCAGAGCCCGGGCAAAGGCCTGGAATGGCTGGGCG
TGATTTGGAGCGGCGGCAACACCGATTATAACACCCCGTTTACCAGCCGC
CTGAGCATTAAACAAGATAACAGCAAAGCCAGGTGTTTTTTAAATGAAC
AGCCTGCAAAGCCAGGATACCGCGATTTATTATTGCGCGCGCGCGCTGAC
CTATTATGATTATGAATTTGCGTATTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGT

GAGCGCGGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCC
TCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGG
ACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACC
AGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTC
CCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACC
TACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAA
AGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCCAG
CACCTGAATTTGAAGGGGGACCGTCAGTCTTCTTCTTCCCCCAAACCC
AAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGT
GGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGAC
GGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACC
AGAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTG
GCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAG
CCTCAATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCA
CAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGG
TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTG
GAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTC
CCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTTCTACAGCAAGCTCACCGTG
GACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA
TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGG
GTAAA (SEQ ID NO: 129)

SEQUÊNCIA DE AMINOÁCIDOS

[espaçador SEQ ID NO:178][pLW289 sem espaçador SEQ ID
NO:197]

QGQSGS[GYLWGCEWNCGGITT][GSSGGSGGSGG][LSGRSDDH][
GGGS]QTVVTQEFSFSVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQTPGQAP
RGLIGGTNKRAPGVPDRFSGSILGNKAALTITGAQADDES DYICALWYSNLW
VFGGGTKLTVL[GGGGSGGGGSGGGGS]EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCA
ASGFTFSTYAMNWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR
DSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRHGNGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS[

GGGGSJQVQLKQSGPGLVQPSQSL SITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLE
 WLGVIWSSGNTDYNT PFTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSQDTAIYYCARAL
 TYYDYEFAYWGQGLTVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
 FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV
 NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
 TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLT
 VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASI EKTKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD
 KSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 130)

pLW246: LC CF41-2008-C225v5

SEQUÊNCIA DE NUCLEOTÍDEO

[espaçador SEQ ID NO:176][pLW246 sem espaçador SEQ ID
 NO:198]

CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGTCTTAGTTGTGAAGGTTGGGCGA
 TGAATAGAGAACAATGTCGAGCCGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTAT
 CTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACCAGCACGGCGGAGGATCC
 CAAATCCTGCTGACACAGTCTCCTGTCATACTGAGTGTCTCCCCCGGCGA
 GAGAGTCTCTTTCTCATGTCCGGCCAGTCAGTCTATTGGGACTAACATACA
 CTGGTACCAGCAACGCACCAACGGAAGCCCGCGCCTGCTGATTAAATATG
 CGAGCGAAAGCATTAGCGGCATTCCGAGCCGCTTTAGCGGCAGCGGCAG
 CGGCACCGATTTTACCCTGAGCATTAAACAGCGTGGAAGCGAAGATATTG
 CGGATTATTATTGCCAGCAGAACAACA ACTGGCCGACCACCTTTGGCGCG
 GGCACCAA ACTGGA ACTGAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCAT
 CTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGA ACTGCCTCTGTTGTGTG
 CCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGG
 ATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGAC
 AGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAG
 CAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC
 CTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT (SEQ ID
 NO: 131)

SEQUÊNCIA DE AMINOÁCIDOS

[espaçador SEQ ID NO:178][pLW246 sem espaçador SEQ ID NO:199]

QGQSGQG[LSCEGWAMNREQCRA][GGGSSGGS][ISSGLLSGRSD QH][GGGS]QILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHWYQQRRTNGSPRL LIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQNNNWPTTFGA GTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNMFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC (SEQ ID NO: 132)

CI107: 3954-0011-C225v5Fcmt4-h20GG-2006-v16sc-H-N

pLW307: HC h20GG-2006-v16sc-C225v5Fcmt4 (H-N)

SEQUÊNCIA DE NUCLEOTÍDEO

[espaçador SEQ ID NO:191][pLW307 sem espaçador SEQ ID NO:200]

CAAGGCCAGTCTGGATCCGGTTATCTGTGGGGTTGCGAGTGGA ATTGCGGAGGGATCACTACAGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGG TGGTATATCGAGTGGATTGCTGTCTGGCAGATCTGACGATCACGGCGGCG GTTCTCAAAGTGTAGTAACTCAAGAACCAAGCTTCTCCGTCTCCCCTGGGG GAACAGTCACACTTACCTGCCGAAGTAGTACAGGTGCTGTTACGACCAGT AACTATGCCAATTGGGTACAACAACGCCTGGTCAGGCTCCGCGCGGATT GATAGGAGGCACGAATAAACGGGCACCCGGTGTCCCGGACAGATTCAGC GGAAGCATACTCGGTAATAAGGCAGCTCTTACTATCACTGGGGCCCAAGC TGATGATGAAAGTGATTATTATTGTGCGCTCTGGTACAGCAACCTCTGGGT GTTTGGGGGTGGCACGAACTTACTGTCTTGGGCGGCGGCGGATCAGGG GGAGGTGGCTCTGGAGGAGGAGGCTCAGAAGTCCAAGTGGTTCGAATCCG GGGGAGGGCTCGTACAGCCGGGTGGGTCCCTCAAAGTCTCTTGTGCGGC CTCAGGGTTTACCTTCAGTACATACGCGATGAATTGGGTCCGGCAGGCCA GTGGGAAAGGGCTCGAATGGGTAGGACGAATCCGATCAAATAACAACAAC TACGCTACTTATTACGCTGATTCCGTGAAGGACAGATTCACAATATCCCGC GACGATAGCAAGAATACGGCATATCTTCAGATGAATTCTCTTAAAGTGGAG

GATACCGCTGTGTATTACTGCACAAGACATGGTAATTTTGGAACTCATAT
GTCTCTTGGTTCGCTTATTGGGGACAGGGCACGTTGGTTACCGTGTCTAG
CGGAGGTGGTGGATCCCAGGTGCAGCTGAAACAGAGCGGCCCGGGCCTG
GTGCAGCCGAGCCAGAGCCTGAGCATTACCTGCACCGTGAGCGGCTTTA
GCCTGACCAACTATGGCGTGCATTGGGTGCGCCAGAGCCCGGGCAAAGG
CCTGGAATGGCTGGGCGTGATTTGGAGCGGCGGCAACACCGATTATAACA
CCCCGTTTACCAGCCGCCTGAGCATTAAACAAAGATAACAGCAAAGCCAG
GTGTTTTTTAAAATGAACAGCCTGCAAAGCCAGGATACCGCGATTTATTATT
GCGCGCGCGCGCTGACCTATTATGATTATGAATTTGCGTATTGGGGCCAG
GGCACCTGGTGACCGTGAGCGCGGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCT
TCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCT
GGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGG
AACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCCTACA
GTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCA
GCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAAC
ACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACA
TGCCACCGTGCCCAGCACCTGAATTTGAAGGGGGACCGTCAGTCTTCCT
CTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGG
TCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTC
AACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGC
GGGAGGAGCAGTACCAGAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGT
CCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCA
ACAAAGCCCTCCCAGCCTCAATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGG
CAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGA
TGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCC
AGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCT
ACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTAC
AGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCT
CATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGC
CTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA (SEQ ID NO: 133)

SEQUÊNCIA DE AMINOÁCIDOS

[espaçador SEQ ID NO:178][pLW307 sem espaçador SEQ ID NO:201]

QQQSGS[GYLWGCEWNCGGITT][GSSGGSGGSGG][ISSGLLSGR
 SDDH][GGGS]QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQTP
 GQAPRGLIGGTNKRAPGVDPDRFSGSILGNKAALTITGAQADDES DYCALWY
 SNLWVFGGGTKLTVL[GGGGSGGGGSGGGGS]EVQLVESGGGLVQPGGSLK
 LSCAASGFTFSTYAMNWRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKDRF
 TISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRHGNGNSYVSWFAYWGQGLV
 TVSS[GGGGGS]QVQLKQSGPGLVQPSSLSITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSP
 GKGLEWLGVIWSSGNTDYNTPTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSQDTAIY
 YCARALTYDYEFAYWGQGLVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG
 CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGT
 QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPK
 DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTY
 RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP
 SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFF
 LYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:
 134)

pLW291: LC 3954-0011-C225v5

SEQUÊNCIA DE NUCLEOTÍDEO

[espaçador SEQ ID NO:180][pLW291 sem espaçador SEQ ID NO:202]

CAAGGCCAGTCTGGCCAGTGCATCTCACCTCGTGGTTGTCCGG
 ACGGCCCATACGTACGTACGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGG
 TGGATCCGGTCTGAGCGGCCGTTCCGATGATCATGGCAGTAGCGGTACCC
 AGATCTTGCTGACCCAGAGCCCGGTGATTCTGAGCGTGAGCCCGGGCGA
 ACGTGTGAGCTTTAGCTGCCGCGCGAGCCAGAGCATTGGCACCAACATTC
 ATTGGTATCAGCAGCGCACCAACGGCAGCCCGCGCCTGCTGATTAAATAT
 GCGAGCGAAAGCATTAGCGGCATTCCGAGCCGCTTTAGCGGCAGCGGCA

GCGGCACCGATTTTACCCTGAGCATTAAACAGCGTGGAAAGCGAAGATATT
 GCGGATTATTATTGCCAGCAGAACAACAACACTGGCCGACCACCTTTGGCGC
 GGGCACCAAACACTGGAACGTAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCA
 TCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACACTGCCTCTGTTGTGT
 GCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTG
 GATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGA
 CAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAA
 GCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGG
 CCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT (SEQ ID
 NO: 135)

SEQUÊNCIA DE AMINOÁCIDOS

[espaçador SEQ ID NO:178][pLW291 sem espaçador SEQ ID
 NO:203]

QGQSGQ[CISPRGCPDGPYVMY][GSSGGSGGSGGSG][LSGRSDD
 H][GSSGT]QILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHWYQQRRTNGSPRL
 LIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLINSVESEDIADYYCQQNNNWPTTFGA
 GTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
 LQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV
 TKSFNRGEC (SEQ ID NO: 136)

CI127: SynFcmt4-h20GG-0011-v16sc-H-N

pLW334: HC h20GG-0011-v16sc-Synagis[®]Fcmt4 (H-N)

SEQUÊNCIA DE NUCLEOTÍDEO

[espaçador SEQ ID NO:191][pLW334 sem espaçador SEQ ID
 NO:204]

CAAGGCCAGTCTGGATCCGGTTATCTGTGGGGTTGCGAGTGGA
 ATTGCGGAGGGATCACTACAGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGG
 TGGTCTGAGCGGCCGTTCCGATGATCATGGCGGCGGTTCTCAAACACTGTAG
 TAACTCAAGAACCAAGCTTCTCCGTCTCCCCTGGGGGAACAGTCACACTTA
 CCTGCCGAAGTAGTACAGGTGCTGTTACGACCAGTAACTATGCCAATTGG
 GTACAACAAACGCCTGGTCAGGCTCCGCGCGGATTGATAGGAGGCACGA

ATAAACGGGCACCCGGTGTCCCGGACAGATTCAGCGGAAGCATACTCGGT
AATAAGGCAGCTCTTACTATCACTGGGGCCCAAGCTGATGATGAAAGTGAT
TATTATTGTGCGCTCTGGTACAGCAACCTCTGGGTGTTTGGGGGTGGCAC
GAAACTTACTGTCTTGGGCGGCGGCGGATCAGGGGGAGGTGGCTCTGGA
GGAGGAGGCTCAGAAGTCCAACCTGGTCGAATCCGGGGGAGGGCTCGTAC
AGCCGGGTGGGTCCCTCAAACCTCTTGTGCGGCCTCAGGGTTTACCTTC
AGTACATACGCGATGAATTGGGTCCGGCAGGCCAGTGGGAAAGGGCTCG
AATGGGTAGGACGAATCCGATCAAAATACAACAACCTACGCTACTTATTACG
CTGATTCCGTGAAGGACAGATTCACAATATCCCGCGACGATAGCAAGAATA
CGGCATATCTTCAGATGAATTCTTTAAACTGAGGATACCGCTGTGTATTA
CTGCACAAGACATGGTAATTTTGGAACTCATATGTCTCTTGGTTCGCTTAT
TGGGGACAGGGCACGTTGGTTACCGTGTCTAGCGGAGGTGGTGGATCCC
AAGTGACCCTGAGAGAGTCTGGCCCTGCCCTCGTGAAGCCTACCCAGACC
CTGACACTGACCTGCACCTTCAGCGGCTTCAGCCTGAGCACCAGCGGCAT
GTCTGTGGGCTGGATCAGACAGCCTCCTGGCAAGGCCCTGGAATGGCTG
GCCGACATTTGGTGGGACGACAAGAAGGACTACAACCCCAGCCTGAAGTC
CCGGCTGACCATCAGCAAGGACACCAGCAAGAACCAGGTGGTGTCTGAAA
GTGACCAACATGGACCCCGCCGACACCGCCACCTACTACTGCGCCAGATC
CATGATCACCAACTGGTACTTCGACGTGTGGGGAGCCGGCACCACCGTGA
CAGTGTCATCTGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCC
TCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA
AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCT
GACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCT
ACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCA
GACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACA
AGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCC
CAGCACCTGAATTTGAAGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCAAAA
CCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGT
GGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTG
GACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGT

ACCAGAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGAC
 TGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCC
 AGCCTCAATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAAC
 CACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCA
 GGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCG
 TGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCC
 TCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCG
 TGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATG
 CATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCC
 GGGTAAA (SEQ ID NO: 137)

SEQUÊNCIA DE AMINOÁCIDOS

[espaçador SEQ ID NO:178][pLW334 sem espaçador SEQ ID
 NO:205]

QQQSGS[GYLWGCEWNCGGITT][GSSGGSGGSGG][LSGRSDDH][
 GGS]QTVVTQEFSFSVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQTPGQAP
 RGLIGGTNKRAPGVPDFRSGSILGNKAALTITGAQADDES DYICALWYSNLW
 VFGGGTKLTVL[GGGGSGGGGSGGGGS]EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCA
 ASGFTFSTYAMNWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR
 DSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRHNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVSS[
 GGGGS]QVTLRESGPALVKPTQTLTCTFSGFSLSTSGMSVGVIRQPPGKAL
 EWLADIWDDKDYNP SLKSRLTISKDT SKNQVVLKVTNMDPADTATYYCAR
 SMITNWFYFDVWGAGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD
 YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN
 VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
 RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSV
 LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM
 TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT
 VDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 138)

pLW139: LC Synagis®

SEQUÊNCIA DE NUCLEOTÍDEO

GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCACACTGAGCGCCAGCG
 TGGGCGACAGAGTGACCATCACATGCAAGTGCCAGCTGAGCGTGGGCTA
 CATGCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCT
 ACGACACCAGCAAGCTGGCCTCCGGCGTGCCCAGCAGATTTTCTGGCAG
 CGGCTCCGGCACCGAGTTCACCCTGACAATCAGCAGCCTGCAGCCCGAC
 GACTTCGCCACCTACTACTGTTTTCAAGGCTCCGGCTACCCCTTACCTTC
 GGCGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAGCGGACGGTGGCTGCACCATCTG
 TCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTG
 TTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGA
 AGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACACAGAG
 CAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGA
 GCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCAT
 CAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
 (SEQ ID NO: 139)

SEQUÊNCIA DE AMINOÁCIDOS

DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCKCQLSVGYMHWYQQKPGKAPKL
 LIYDTSKSLASGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFFATYYCFQSGYPFTFG
 GGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN
 ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP
 VTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 140)

CI128: SynFcmt4-h20GG-2006-v16sc-H-N

pLW335: HC h20GG-2006-v16sc-Synagis®Fcmt4 (H-N)

SEQUÊNCIA DE NUCLEOTÍDEO

[espaçador SEQ ID NO:191][pLW335 sem espaçador SEQ ID
 NO:206]

CAAGGCCAGTCTGGATCCGGTTATCTGTGGGGTTGCGAGTGGA
 ATTGCGGAGGGATCACTACAGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGG
 TGGTATATCGAGTGGATTGCTGTCTGGCAGATCTGACGATCACGGCGGCG
 GTTCTCAAAGTGTAGTAACTCAAGAACCAAGCTTCTCCGTCTCCCCTGGGG
 GAACAGTCACACTTACCTGCCGAAGTAGTACAGGTGCTGTTACGACCAGT

AACTATGCCAATTGGGTACAACAAACGCCTGGTCAGGCTCCGCGCGGATT
GATAGGAGGCACGAATAAACGGGCACCCGGTGTCCCGGACAGATTCAGC
GGAAGCATACTCGGTAATAAGGCAGCTCTTACTATCACTGGGGCCCAAGC
TGATGATGAAAGTGATTATTATTGTGCGCTCTGGTACAGCAACCTCTGGGT
GTTTGGGGGTGGCACGAACTTACTGTCTTGGGCGGCGGCGGATCAGGG
GGAGGTGGCTCTGGAGGAGGAGGCTCAGAAGTCCAACCTGGTTCGAATCCG
GGGAGGGGCTCGTACAGCCGGGTGGGTCCCTCAAACCTCTCTTGTGCGGC
CTCAGGGTTTACCTTCAGTACATACGCGATGAATTGGGTCCGGCAGGCCA
GTGGGAAAGGGCTCGAATGGGTAGGACGAATCCGATCAAATAACAAC
TACGCTACTTATTACGCTGATTCCGTGAAGGACAGATTCACAATATCCCGC
GACGATAGCAAGAATACGGCATATCTTCAGATGAATTCTCTTAAACTGAG
GATACCGCTGTGTATTACTGCACAAGACATGGTAATTTTGGAACTCATAT
GTCTCTTGGTTCGCTTATTGGGGACAGGGCACGTTGGTTACCGTGTCTAG
CGGAGGTGGTGGATCCCAAGTGACCCTGAGAGAGTCTGGCCCTGCCCTC
GTGAAGCCTACCCAGACCCTGACACTGACCTGCACCTTCAGCGGCTTCAG
CCTGAGCACCAGCGGCATGTCTGTGGGCTGGATCAGACAGCCTCCTGGC
AAGGCCCTGGAATGGCTGGCCGACATTTGGTGGGACGACAAGAAGGACT
ACAACCCCAAGCCTGAAGTCCCGGCTGACCATCAGCAAGGACACCAGCAAG
AACCAGGTGGTGTCTGAAAGTGACCAACATGGACCCCGCCGACACCGCCA
CCTACTACTGCGCCAGATCCATGATCACCAACTGGTACTTCGACGTGTGG
GGAGCCGGCACCACCGTGACAGTGTCTGCTAGCACCAAGGGCCCAT
CGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGC
GGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTG
TCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG
TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC
TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCC
CAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAA
CTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAATTTGAAGGGGGACCGTCA
GTCTTCCTCTTCCCCCAAACCCAAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGAC
CCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAG

GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGAC
 AAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACCAGAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTC
 CTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAA
 GGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCTCAATCGAGAAAACCATCTCCAAAG
 CCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCG
 GGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGC
 TTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGG
 AGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTC
 TTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGA
 ACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACG
 CAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTA (SEQ ID NO: 141)

SEQUÊNCIA DE AMINOÁCIDOS

[espaçador SEQ ID NO:178][pLW335 sem espaçador SEQ ID
 NO:207]

QQQSGS[GylWGCEWNCGGITT][GSSGGSGGSGG][ISSGLLSGR
 SDDH][GGGS]QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQTP
 GQAPRGLIGGTNKRAPGVDPDRFSGSILGNKAALTITGAQADDES DYCALWY
 SNLWVFGGGTKLTVL[GGGGSGGGGSGGGGS]EVQLVESGGGLVQPGGSLK
 LSCAASGFTFSTYAMNWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKDRF
 TISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRHGNGNSYVSWFAYWGQGLV
 TVSS[GGGGS]QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTSGMSVGVIRQP
 PGKALEWLADIWWDDKKDYNPSLKSRLTISKDTSKNQVVLKVTNMDPADTAT
 YCARSMITNWYFDVWGAGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG
 CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT
 QTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKHTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPK
 DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTY
 RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP
 SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF
 LYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:
 142)

pLW139: LC Synagis®

SEQUÊNCIAS FORNECIDAS ACIMA

CI135: CF41-2008-C225v5Fcmt4-h20GG-0011-v12sc-H-N

pLW352: HC h20GG-0011-v12sc-C225v5Fcmt4 (H-N)

SEQUÊNCIA DE NUCLEOTÍDEO

[espaçador SEQ ID NO:208][pLW352 sem espaçador SEQ ID NO:209]

CAAGGCCAGTCTGGTTCTGGTTATCTGTGGGGTTGCGAGTGGA
ATTGCGGAGGGATCACTACAGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGG
TGGTCTGAGCGGCCGTTCCGATGATCATGGCGGCGGATCCCAGACGGTA
GTGACTCAGGAGCCATCATTCTGTCTCTCCTGGAGGTA CTGTGACACTC
ACATGTAGAAGCTCAACTGGTGCAGTCACCACTTCAAATTACGCGAATTGG
GTCCAGCAGACCCCTGGGCAGGCTCCGAGAGGGTTGATTGGAGGTA CT
ACAAACGGGCACCGGGAGTGCCTGATAGGTTTTCCGGTTCTATTCTCGGA
AACAAAGGCGGCTCTCACGATCACGGGTGCGCAGGCCGACGATGAATCAG
ACTATTACTGCGCTTTGTGGTACTCAAACCTGTGGGTATTCCGAGGGGGC
ACCAAGCTGACGGTGTGGGTGGGGGGGGCTCTGGGGGAGGGGGGAAGC
GGAGGTGGGGGCAGCGAGGTTGAGCTTGTTGAAAGTGGTGGCGGACTCG
TACAACCGGGTGGAAAGTCTTAGACTCTCATGTGCAGCATCTGGATTTACTT
TTTCTACTTATGCTATGAACTGGGTAAGACAGGCACCGGGGAAAGGGCTG
GAATGGGTGCACGCATTCGATCTAAATACAATAACTATGCTACATACTAC
GCCGATAGTGTTAAGGATCGATTCACTATATCTCGGGACGACAGTAAGAAC
TCACTTTACCTGCAGATGAATTCCTTGAAA ACTGAGGACACGGCCGTTTAT
TATTGTGTACGGCACGGGAATTTCCGGCAATTCTTACGTTTCCTGGTTCCGC
TATTGGGGGCAAGGTACGCTGGTACGGTGTCTAGCGGAGGTGGTGGAT
CCCAGGTGCAGCTGAAACAGAGCGGCCCGGGCCTGGTGCAGCCGAGCCA
GAGCCTGAGCATTACCTGCACCGTGAGCGGCTTTAGCCTGACCAACTATG
GCGTGCATTGGGTGCGCCAGAGCCCGGGCAAAGGCCTGGAATGGCTGGG
CGTGATTTGGAGCGGCGGCAACACCGATTATAACACCCCGTTTACCAGCC
GCCTGAGCATTAAACAAAGATAACAGCAAAGCCAGGTGTTTTTTAAAATGA

ACAGCCTGCAAAGCCAGGATACCGCGATTTATTATTGCGCGCGCGCGCTG
 ACCTATTATGATTATGAATTTGCGTATTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACC
 GTGAGCGCGGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCT
 CCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAA
 GGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTG
 ACCAGCGGCGTGACACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTA
 CTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAG
 ACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAA
 GAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCC
 CAGCACCTGAATTTGAAGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCAA
 CCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGT
 GGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTG
 GACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGT
 ACCAGAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGAC
 TGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCC
 AGCCTCAATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAAC
 CACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCA
 GGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCG
 TGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCC
 TCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCG
 TGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATG
 CATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCC
 GGGTAAA (SEQ ID NO: 151)

SEQUÊNCIA DE AMINOÁCIDOS

[espaçador SEQ ID NO:176][pLW352 sem espaçador SEQ ID
 NO:210]

QGQSGS[GylWGCEWNCGGITT][GSSGGSGGSGG][LSGRSDDH][
 GGS]QTVVTQEFSFSVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQTPGQAP
 RGLIGGTNKRAPGVPRDFSGSILGNKAALTITGAQADDES DYCALWYSNLW
 VFGGGTKLTVL[GGGGSGGGGSGGGGS]EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA

ASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRD
 DSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS[
 GGGGS]QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLE
 WLGVIWSSGNTDYNTPTFTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSQDTAIYYCARAL
 TYYDYEFAYWGQGLTVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
 FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV
 NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
 TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLT
 VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV
 KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 146)

pLW246: LC CF41-2008-C225v5

SEQUÊNCIA DE NUCLEOTÍDEO

Sequências fornecidas acima

SEQUÊNCIA DE AMINOÁCIDOS

Sequências fornecidas acima

CI136: CF41-2008-C225v5Fcmt4-h20GG-0011-v19sc-H-N

pLW353: HC h20GG-0011-v19sc-C225v5Fcmt4 (H-N)

SEQUÊNCIA DE NUCLEOTÍDEO

[espaçador SEQ ID NO:191][pLW353 sem espaçador SEQ ID
 NO:211]

CAAGGCCAGTCTGGATCCGGTTATCTGTGGGGTTGCGAGTGGA
 ATTGCGGAGGGATCACTACAGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGG
 TGGTCTGAGCGGCCGTTCCGATGATCATGGCGGCGGTTCTCAGGCCGTT
 GTTACACAAGAGCCTTCACTTACTGTGTCTCCAGGAGGCACTGTGACACTT
 ACGTGCCGATCCTCTACGGGTGCCGTGACCACAAGCAACTATGCCAACTG
 GGTCCAGCAGAAGCCAGGTCAAGCGCCTCGAGGTCTGATCGGGGGCACG
 AATAAACGAGCTCCTGGAACCTCCGGCCAGATTTTCTGGGAGTCTTATTGGT
 GGCAAGGCGGCGTTGACCCTGAGTGGAGCCCAACCGGAAGACGAGGCC
 GAGTACTACTGCGCCTTGTGGTATTCCAATTTGTGGGTCTTCGGAGGCCG

AACAAAGCTCACAGTACTGGGAGGTGGAGGTAGCGGGGGCGGAGGCTCC
GGGGGAGGTGGTTCCGAAGTCCAGCTTGTGAATCAGGTGGGGGCTTGG
TACAACCAGGTGGTTCCTGAAGTTGTCCTGTGCAGCGTCCGGATTTACAT
TTAGTACGTATGCTATGAACTGGGTCAGGCAGGCCAGTGGTAAAGGTCTC
GAATGGGTTGGCCGGATAAGGTCAAAGTACAATAATTACGCAACCTACTAC
GCGGATTCCGTGAAAGACAGGTTCACTATTTACGAGATGATAGCAAAAAT
ACTGCGTATCTCCAAATGAATAGTCTTAAACTGAAGACACTGCCGTATATT
ATTGCACTAGGCACGGCAACTTTGGTAACTCTTATGTTTCTTGGTTCGCAT
ACTGGGGACAAGGAACTTTGGTCACTGTCTCATCTGGAGGTGGTGGATCC
CAGGTGCAGCTGAAACAGAGCGGCCCGGGCCTGGTGCAGCCGAGCCAGA
GCCTGAGCATTACCTGCACCGTGAGCGGCTTTAGCCTGACCAACTATGGC
GTGCATTGGGTGCGCCAGAGCCCGGGCAAAGGCCTGGAATGGCTGGGCG
TGATTTGGAGCGGCGGCAACACCGATTATAACACCCCGTTTACCAGCCGC
CTGAGCATTAAACAAAGATAACAGCAAAAGCCAGGTGTTTTTTAAATGAAC
AGCCTGCAAAGCCAGGATACCGCGATTTATTATTGCGCGCGCGCGCTGAC
CTATTATGATTATGAATTTGCGTATTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGT
GAGCGCGGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCC
TCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGG
ACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTGCTGGAACCTCAGGCGCCCTGACC
AGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCTACTC
CCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACC
TACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAA
AGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCCAG
CACCTGAATTTGAAGGGGGACCGTCAGTCTTCTTCCCCCAAACCC
AAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGT
GGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGAC
GGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACC
AGAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTG
GCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAG
CCTCAATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCA

CAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGG
 TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTG
 GAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTC
 CCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTG
 GACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA
 TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGG
 GTAAA (SEQ ID NO: 152)

SEQUÊNCIA DE AMINOÁCIDOS

[espaçador SEQ ID NO:178][pLW353 sem espaçador SEQ ID
 NO:212]

QGQSGS[GYLWGCEWNCGGITT][GSSGGSGGSGG][LSGRSDDH][
 GGGG]QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAP
 RGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLIGGKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLW
 VFGGGTKLTVL[GGGGSGGGGSGGGGS]EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCA
 ASGFTFSTYAMNWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR
 DSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRHGNGNSYVSWFAYWGQGLVTVSS[
 GGGGS]QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLE
 WLGVIVSGGNTDYNTPTFTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSQDTAIYYCARL
 TYYDYEFAYWGQGLVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
 FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV
 NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
 TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLT
 VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV
 D KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 148)

pLW246: LC CF41-2008-C225v5

Sequências fornecidas acima

CI091: 3954-1490DQH-C225v5Fcmt4-h20GG-2008-v16sc-H-N

pLW242: HC C225v5Fcmt4-h20GG-2008-v16sc (H-N)

SEQUÊNCIA DE ÁCIDO NUCLEICO

[espaçador SEQ ID NO:191][pLW242 sem espaçador SEQ ID NO:213]

CAAGGCCAGTCTGGATCCGGTTATCTGTGGGGTTGCGAGTGGA
ATTGCGGAGGGATCACTACAGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGG
TGGTATATCGAGTGGATTGCTGTCTGGCAGATCTGACCAACACGGCGGCG
GTTCTCAAAGTGTAGTAACTCAAGAACCAAGCTTCTCCGTCTCCCCTGGGG
GAACAGTCACACTTACCTGCCGAAGTAGTACAGGTGCTGTTACGACAGT
AACTATGCCAATTGGGTACAACAAACGCCTGGTCAGGCTCCGCGCGGATT
GATAGGAGGCACGAATAAACGGGCACCCGGTGTCCCGGACAGATTCAGC
GGAAGCATACTCGGTAATAAGGCAGCTCTTACTATCACTGGGGCCCAAGC
TGATGATGAAAGTGATTATTATTGTGCGCTCTGGTACAGCAACCTCTGGGT
GTTTGGGGGTGGCACGAACTTACTGTCTTGGGCGGCGGCGGATCAGGG
GGAGGTGGCTCTGGAGGAGGAGGCTCAGAAGTCCAAGTGGTTCGAATCCG
GGGAGGGGCTCGTACAGCCGGGTGGGTCCCTCAAAGTCTCTTGTGCGGC
CTCAGGGTTTACCTTCAGTACATACGCGATGAATTGGGTCCGGCAGGCCA
GTGGGAAAGGGCTCGAATGGGTAGGACGAATCCGATCAAATAACAACAAC
TACGCTACTTATTACGCTGATTCCGTGAAGGACAGATTCACAATATCCCGC
GACGATAGCAAGAATACGGCATATCTTCAGATGAATTCTCTTAAAGTGG
GATACCGCTGTGTATTACTGCACAAGACATGGTAATTTTGGAACTCATAT
GTCTCTTGGTTCGCTTATTGGGACAGGGCACGTTGGTTACCGTGTCTAG
CGGAGGTGGTGGATCCCAGGTGCAGCTGAAACAGAGCGGCCCGGGCCTG
GTGCAGCCGAGCCAGAGCCTGAGCATTACCTGCACCGTGAGCGGCTTTA
GCCTGACCAACTATGGCGTGCATTGGGTGCGCCAGAGCCCGGGCAAAGG
CCTGGAATGGCTGGGCGTGATTTGGAGCGGCGGCAACACCGATTATAACA
CCCCGTTTACCAGCCGCCTGAGCATTAAACAAAGATAACAGCAAAGCCAG
GTGTTTTTTAAATGAACAGCCTGCAAAGCCAGGATACCGCGATTTATTATT
GCGCGCGCGCGCTGACCTATTATGATTATGAATTTGCGTATTGGGGCCAG
GGCACCTGGTGACCGTGAGCGCGGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCT
TCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCT
GGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTTG

AACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACA
 GTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCA
 GCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAAC
 ACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACA
 TGCCACACCGTGCCCAGCACCTGAATTTGAAGGGGACCGTCAGTCTTCCT
 CTTCCCCC AAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGG
 TCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTC
 AACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGC
 GGGAGGAGCAGTACCAGAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGT
 CCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCA
 ACAAAGCCCTCCAGCCTCAATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGG
 CAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGA
 TGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCC
 AGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAAC
 ACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTAC
 AGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCT
 CATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGC
 CTCTCCCTGTCTCCGGG TAAA (SEQ ID NO: 168)

SEQUÊNCIA DE AMINOÁCIDOS

[espaçador SEQ ID NO:178][pLW242 sem espaçador SEQ ID
 NO:214]

QQQSGS[G YLWGCEWNCGGITT]GSSGGSGGSGG[ISSGLLSGRS
 DQH]GGGSQTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQTPG
 QAPRGLIGGTNKRAPGV PDRFSGSILGNKAALTITGAQADDES DYICALWYSN
 LWVFGGGTKLTVLGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQP GGS LKLS
 AASGFTFSTYAMNWVRQASGKLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR
 DDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS
 GGGGSQVQLKQSGPGLVQPSQSL SITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKLE
 WLGVIVSGGNTDYNT PFTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSQDTAIYYCARAL
 TYYDYEFAYWGQGLTVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY

FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV
 NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
 TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLT
 VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD
 KSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 169)

CX320: 3954-C225v5-2008

SEQUÊNCIA DE ÁCIDO NUCLEICO

[espaçador SEQ ID NO:180][CX320 sem espaçador SEQ ID
 NO:215]

CAAGGCCAGTCTGGCCAGTGCATCTCACCTCGTGGTTGTCCGG
 ACGGCCCATACGTCATGTACGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGG
 TGGATCCGGTATATCGAGTGGATTGCTGTCTGGCAGATCTGACCAACACG
 GCAGTAGCGGTACCCAGATCTTGCTGACCCAGAGCCCGGTGATTCTGAGC
 GTGAGCCCGGGCGAACGTGTGAGCTTTAGCTGCCGCGCGAGCCAGAGCA
 TTGGCACCAACATTCAATTGGTATCAGCAGCGCACCAACGGCAGCCCGCGC
 CTGCTGATTAATATGCGAGCGAAAGCATTAGCGGCATTCCGAGCCGCTTT
 AGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGATTTTACCCTGAGCATTAAACAGCGTGG
 AAAGCGAAGATATTGCGGATTATTATTGCCAGCAGAACAACAACACTGGCCGA
 CCACCTTTGGCGCGGGCACCAAACTGGAACGTAAACGTACGGTGGCTGCA
 CCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAC
 GCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTA
 CAGTGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGT
 CACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTG
 ACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGT
 CACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGA
 GAGTGT (SEQ ID NO: 170)

SEQUÊNCIA DE AMINOÁCIDOS

[espaçador SEQ ID NO:178][CX320 sem espaçador SEQ ID
 NO:216]

QGQSGQ[CISPRGCPDGPYVMY]GSSGGSGGSGGSG[ISSGLLSG
 RSDQH]GSSGTQILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHWYQQRRTNG
 SPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLINSVESEDIADYYCQQNNNWPT
 TFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK
 VDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGL
 SSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 171)

CI064: SynN297Q-JF15865-0001-hSP34LvHv-H-N

pLW138: HC SynN297Q-JF15865-0001-hSP34LvHv-H-N

SEQUÊNCIA DE ÁCIDO NUCLEICO

[espaçador SEQ ID NO:176][pLW138 sem espaçador SEQ ID
 NO:147]

CAAGGCCAGTCTGGCCAAATGATGTATTGCGGTGGGAATGAGG
 TGTTGTGCGGGCCGCGGGTTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTG
 GTGGTCTGAGCGGCCGTTCCGATAATCATGGCGGCGGTTCTCAGACCGTG
 GTCACACAGGAGCCCTCACTGACAGTGAGCCCTGGCGGGACCGTCACAC
 TGACTIONTGTGCGAGTTCAACTGGCGCCGTGACTACCAGCAATTACGCTAACT
 GGGTCCAGCAGAAACCAGGACAGGCACCACGAGGACTGATCGGAGGAAC
 TAATAAGAGAGCACCAGGAACCCCTGCAAGGTTCTCCGGATCTCTGCTGG
 GGGGAAAAGCCGCTCTGACACTGAGCGGCGTGCAGCCTGAGGACGAAGC
 TGAGTACTATTGCGCACTGTGGTACTCCAACCTGTGGGTGTTTGGCGGGG
 GAACTAAGCTGACCGTCCTGGGAGGAGGAGGAAGCGGAGGAGGAGGGA
 GCGGAGGAGGAGGATCCGAAGTGCAGCTGGTTCGAGAGCGGAGGAGGAC
 TGGTGCAGCCAGGAGGATCCCTGAAGCTGTCTTGTGCAGCCAGTGGCTTC
 ACCTTCAACACTTACGCAATGAACTGGGTGCGGCAGGCACCTGGGAAGGG
 ACTGGAATGGGTGCGCCCGGATCAGATCTAAATACAATAACTATGCCACCTA
 CTATGCTGACAGTGTGAAGGATAGGTTCCACATTTACGCGACGATAGCAA
 AAACACAGCTTATCTGCAGATGAATAACCTGAAGACCGAGGATACAGCAGT
 GTACTIONTATTGCGTCAGACACGGCAATTTCCGGAACTCTTACGTGAGTTGGTT
 TGCCTATTGGGGACAGGGGACACTGGTCCCGTCTCCTCAGGAGGTGGT
 GGATCCCAAGTGACCCTGAGAGAGTCTGGCCCTGCCCTCGTGAAGCCTAC

CCAGACCCTGACACTGACCTGCACCTTCAGCGGCTTCAGCCTGAGCACCA
GCGGCATGTCTGTGGGCTGGATCAGACAGCCTCCTGGCAAGGCCCTGGA
ATGGCTGGCCGACATTTGGTGGGACGACAAGAAGGACTACAACCCCAGCC
TGAAGTCCCGGCTGACCATCAGCAAGGACACCAGCAAGAACCAGGTGGT
GCTGAAAGTGACCAACATGGACCCCGCCGACACCGCCACCTACTACTGCG
CCAGATCCATGATCACCAACTGGTACTTCGACGTGTGGGGAGCCGGCACC
ACCGTGACAGTGTATCTGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCT
GGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGC
CTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGAACTCAGG
CGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCTCAG
GACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGC
ACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGT
GGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACC
GTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTTCCCCC
CAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGC
GTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTA
CGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAG
CAGTACCAGAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCA
GGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCC
TCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGA
GAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGA
ACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATC
GCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCA
CGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTTCTACAGCAAGCTC
ACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCG
TGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTG
TCTCCGGGTAAA (SEQ ID NO: 172)

SEQUÊNCIA DE AMINOÁCIDOS

[espaçador SEQ ID NO:178][pLW138 sem espaçador SEQ ID
NO:153]

QGQSGQ[MMYCGGNEVLCGPRV]GSSGGSGGSGG[LSGRSDNH]
 GGSQTVVTQEPLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPR
 GLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWV
 FGGGTKLTVLGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS
 GFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDS
 KNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFNGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGG
 GGSQVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTSGMSVGVIRQPPGKALEW
 LADIWWDDKKDYNPSLKSRLTISKDTSKNQVVLKVTNMDPADTATYYCARSMI
 TNWYFDVWGAGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
 EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH
 KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP
 EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLTVL
 HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN
 QVSLTCLVKGIFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
 SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 173)

pLW139: LC Syn kappa

SEQUÊNCIA DE ÁCIDO NUCLEICO

GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCACACTGAGCGCCAGCG
 TGGGCGACAGAGTGACCATCACATGCAAGTGCCAGCTGAGCGTGGGCTA
 CATGCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCT
 ACGACACCAGCAAGCTGGCCTCCGGCGTGCCAGCAGATTTTCTGGCAG
 CGGCTCCGGCACCGAGTTCACCCTGACAATCAGCAGCCTGCAGCCCGAC
 GACTTCGCCACCTACTACTGTTTTCAAGGCTCCGGCTACCCCTTCACCTC
 GGCGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAGCGGACGGTGGCTGCACCATCTG
 TCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTG
 TTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGA
 AGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAG
 CAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGA
 GCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCAT
 CAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT

(SEQ ID NO: 174)

SEQUÊNCIA DE AMINOÁCIDOS

DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCKCQLSVGYMHWYQQKPGKAPKL
LIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCFQSGSGYPFTFG
GGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDN
ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP
VTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 175)

VARIANTE v12 DE scFv ANTI-CD3

Cadeia leve LV12

Cadeia pesada HV12

Sequências fornecidas acima

VARIANTE v16 DE scFv ANTI-CD3

Cadeia leve LV12

Cadeia pesada HV20

Sequências fornecidas acima

VARIANTE v19 DE scFv ANTI-CD3

Cadeia leve LV19

Cadeia pesada HV20

Sequências fornecidas acima

VARIANTE v26 DE scFv ANTI-CD3

Cadeia leve LV19

Cadeia pesada HV12

Sequências fornecidas acima

CONSTRUÇÃO DE VETOR

[0348] As cadeias pesada e leve foram clonadas separadamente num vetor de expressão de mamífero com o uso de técnicas de biologia molecular padrão. Brevemente, os fragmentos de DNA que codificam a região de interesse foram amplificados com iniciadores que se ligam às extremidades terminais. Os fragmentos em sobreposição foram combinados e amplificados com iniciadores de flanqueamento conforme necessário para construir a região

desejável inteira. Os fragmentos de DNA foram subsequentemente clonados no vetor de expressão com o uso de um kit de recombinação homólogo comercialmente disponível (MCLabs, South San Francisco, CA). O vetor de expressão de mamífero é uma versão modificada de cDNATM3.1(+) de Invitrogen com marcador de seleção de G418 ou higromicina. As mutações foram introduzidas com o uso do Kit QuikChange (Agilent, Santa Clara, CA).

EXPRESSÃO DE AAS E BAAS DUPLAMENTE MASCARADOS (BAAS)

[0349] AAs e BAAs foram expressos em células de mamíferos com o uso de um kit de transfecção padrão (Life Technologies, Grand Island, NY). Brevemente, 293 células foram transfectadas com ácidos nucleicos com o uso de um sistema com base em lipídio, seguindo o protocolo recomendado do fabricante. AAs e BAAs duplamente mascarados foram purificados do sobrenadante livre de célula com o uso de microesferas de Proteína A (GE, Piscataway, NJ) e concentrados com o uso de colunas de troca de tampão padrão (Millipore, Temecula, CA).

EXEMPLO 2. LIGAÇÃO DE AAS ESPECÍFICOS DUPLAMENTE MASCARADOS A CÉLULAS EGFR+ HT-29 E CÉLULAS CD3 ϵ + JURKAT

[0350] Para determinar se os peptídeos de mascaramento EGFR e CD3 ϵ e substratos de protease descritos podem inibir a ligação no contexto de um AA biespecífico duplamente mascarado, um ensaio de ligação com base em citometria de fluxo foi realizado.

[0351] As células HT-29-luc2 (Caliper) e Jurkat (Clone E6-1, ATCC, TIB-152) foram cultivadas em RPMI-1640+glutamax (Life Technologies, Catálogo 72400-047), Soro Bovino Fetal Desativado por Calor 10% (HI-FBS, Life Technologies, Catálogo 10438-026), penicilina 100 U/ml, e estreptomicina 100 μ g/ml (Life Technologies, Catálogo 15140-122) de acordo com as diretrizes do fabricante. Os seguintes anticorpos ativados biespecíficos CI048 e CI104 (act-104), e AAs biespecíficos duplamente mascarados CI011, CI106, e CI107 foram testados. Duas versões de SP34 scFv foram utilizadas, a saber, o scFv

em CI011 e CI048 versus o scFv em CI104, CI106, e CI107. Duas versões da máscara EGFR foram utilizadas, a saber, a máscara EGFR em CI011 e CI107 versus a máscara EGFR em CI106. Duas versões da máscara CD3 foram utilizadas, a saber, a máscara CD3 em CI011 versus a máscara CD3 em CI106 e CI107.

[0352] As células HT29-luc2 foram desligadas com Versene™ (Life Technologies, Catálogo 15040-066), lavadas, transferidos para placa em placas de 96 poços em 150000 células/poço, e ressuspensos em 50 µl de anticorpo primário. As titulações começaram nas concentrações indicadas nas Figuras 1A-1B seguidas por diluições em série de 3 vezes em Tampão de Coloração FACS + FBS 2% (BD Pharmingen, Catálogo 554656). As células foram incubadas a 4 °C com agitação por cerca de 1 hora, colhidas e lavadas com 2x200 µl de Tampão de Coloração FACS. As células foram ressuspensas em 50 µl de Fc de IgG anti-humana conjugada Alexa Fluor 647 (10 µg/ml, Jackson ImmunoResearch, Product 109-606-008) e incubadas a 4 °C com agitação por cerca de 1 hora. HT29-luc2 foram colhidos, lavados, e ressuspensos num volume final de 60 µl de Tampão de Coloração FACS que contém 7-AAD 2,5 µg/ml (BD Biosciences, Catálogo 559925). As células coloridas apenas com anticorpo secundário foram usadas como um controle negativo. Os dados foram adquiridos num Analisador MACSQuant® 10 (Miltenyi) e a intensidade de fluorescência mediana (MFI) de células viáveis foi calculada com o uso de FlowJo® V10 (Treestar). Os dados de MFI subtraídos de fundo foram representados graficamente em GraphPad Prism 6 com o uso de análise de ajuste de curva.

[0353] Jurkats em crescimento na suspensão foram colhidos, lavados, transferidos para placa em placas de 96 poços em 150000 células/poço e ressuspensos em 50 µl de anticorpo primário. A aquisição de dados e coloração foram executados conforme descrito para as células HT29-luc2 acima.

[0354] A Figura 1A demonstra que a incorporação do peptídeo de

maskamento CD3 ϵ de h20GG no CI106 e CI107 de BAAs mascarados de EGFR reduziu significativamente a ligação a células Jurkat em relação a CI011. Em algumas modalidades, a redução em ligação a células Jurkat foi mais do que 5.000 vezes. Em algumas modalidades, um scFv da divulgação também levou à ligação reduzida. Uma redução em ligação a células EGFR+ HT29-luc2 também foi evidente para CI106 e CI107 em relação a CI011 (Figura 1B). Em algumas modalidades, a redução na ligação a células EGFR+ HT29-luc2 foi mais do que 1000 vezes. Na Figura 1A e na Figura 1B, os BAAs duplamente mascarados exibiram ligação reduzida em relação aos anticorpos biespecíficos ativados.

EXEMPLO 3. CITOTOXICIDADE DEPENDENTE DE EGFR DE BAAS DUPLAMENTE MASCARADOS

[0355] Para determinar se as máscaras CD3 ϵ e EGFR e os substratos de protease em CI106 e CI107 podem atenuar adicionalmente o extermínio de célula em relação a CI011 e CI040, um ensaio de citotoxicidade foi realizado. PBMCs humanas foram adquiridas em alíquotas congeladas (HemaCare) e cocultivadas com células HT29-luc2 que expressam EGFR numa razão de 10:1 em RPMI-1640+glutamax suplementado com soro humano desativado por calor 5% (Sigma, Catálogo H3667). As titulações dos seguintes anticorpos ativados biespecíficos e BAAs duplamente mascarados foram testadas: CI011, CI040, CI104 ativado, CI106, e CI107. Além disto, CI127 e CI128 de AAs biespecíficos mascarados de ligação sem EGFR foram usados para demonstrar a dependência de EGFR de citotoxicidade. Após 48 horas, a citotoxicidade foi avaliada com o uso do Sistema de Ensaio de Luciferase ONE-Glo™ (Promega, Catálogo E6130). A luminescência foi medida no Infinite M200 Pro (Tecan). A porcentagem de citotoxicidade foi calculada e plotada em GraphPad PRISM com análise de ajuste de curva. O número de receptor de EGFR num painel de linhagens celulares foi quantificado por citometria de fluxo com o uso de QIFIKIT (Dako).

[0356] A Figura 2A demonstra que o extermínio de células EGFR+ HT29-luc2 foi adicionalmente atenuado por CI106 e CI107 em relação a CI011 e CI040. A Figura 2B mostra que nenhuma citotoxicidade foi observada quando as células foram tratadas com CI127 e CI128 que demonstram a dependência de EGFR que alveja o extermínio de célula. Adicionalmente, a Figura 2B representa mais do que o deslocamento de EC50 de 300000 vezes dos anticorpos biespecíficos duplamente mascarados CI106 e CI107 em relação ao anticorpo biespecífico ativado por protease act-104. A Figura 2C representa o número de receptor de EGFR num painel de linhagens celulares que inclui HT29. O número de receptor de EGFR aproximado nas células HT29 foi 75.000, o que indica que a alta densidade de antígeno não foi necessária para citotoxicidade potente dos anticorpos testados.

EXEMPLO 4. ATIVAÇÃO DE CÉLULA T PRIMÁRIA POR BAAS DUPLAMENTE MASCARADOS

[0357] Para determinar se as máscaras CD3 ϵ e EGFR em CI106 e CI107 podem atenuar a ativação de célula T em relação a CI011 e CI040, um ensaio de citometria de fluxo foi realizado. PBMCs humanos e células U266 foram cocultivados de acordo com as condições descritas no Exemplo 3. Após uma incubação de 48 horas, as células foram peletizadas, os meios foram removidos, e as células foram ressuspensas em 50 μ l de um coquetel que contém VioBlue[®] anti-CD45 (Miltenyi, Catálogo 130-002-880), APC-Vio770 anti-CD8 (Miltenyi, Catálogo 130-096-561) e PE anti-CD69 (BD Pharmingen, Catálogo 555531) em Tampão de Coloração FACS + FBS 2%. As células foram coloridas por 1 h a 4 °C com agitação, colhidas, lavadas, e ressuspensas num volume final de 60 μ l de Tampão FACS. Os dados foram adquiridos num Analisador MACSQuant[®] 10 (Miltenyi) e a ativação foi quantificada em FlowJo[®] V10 (Treestar) como a porcentagem de células T CD8+ com a expressão de CD69 acima do controle de isotipo de PE. Os dados foram plotados em GraphPad PRISM 6 com análise de ajuste de curva.

[0358] A Figura 3A demonstra que a ativação de células T CD8+

primárias foi atenuada por CI106 e CI107, em relação a CI011 e CI040. A Figura 3B demonstra que os anticorpos duplamente mascarados exibem uma curva de resposta de dose deslocada para ativação de célula T em relação ao anticorpo biespecífico ativado por protease act-104 que indica que o mascaramento atenua a ativação de célula T.

EXEMPLO 5. AAS BIESPECÍFICOS DUPLAMENTE MASCARADOS DAS MODALIDADES INDUZIRAM A REGRESSÃO DE TUMORES HT29-LUC2 ESTABELECIDOS EM CAMUNDONGOS

[0359] Neste exemplo, CI106 e CI107 de BAAs duplamente mascarados que alvejam EGFR e CD3 ϵ foram analisados quanto à capacidade para induzir regressão ou reduzir o crescimento de tumores de xenoenxerto HT-29-Luc2 estabelecidos em camundongos NSG enxertados com célula T humana.

[0360] A linhagem celular de câncer de cólon humano HT29-luc2 foi obtida de Perkin Elmer, Inc., Waltham, MA (anteriormente Caliper Life Sciences, Inc.) e cultivada de acordo com os procedimentos estabelecidos. As PBMCs humanas congeladas purificadas foram obtidas junto à Hemacare, Inc., Van Nuys, CA. Os camundongos NSG[™] (NOD.Cg-Prkdcscid Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ) foram obtidos junto à The Jackson Laboratories, Bar Harbor, ME.

[0361] No dia 0, cada camundongo foi inoculado de modo subcutâneo no flanco direito com 2×10^6 HT29-luc2 células em 100 μ l de RPMI + Glutamax, meio livre de soro. As PBMCs anteriormente congeladas de um doador único foram administradas (i.p.) no dia 3 numa razão entre célula T CD3⁺ e célula tumoral de 1:1. Quando os volumes de tumor alcançaram 200 mm³ (aproximadamente dia 12), os camundongos foram aleatorizados, atribuídos a grupos de tratamento e dosados i.v. de acordo com a Tabela 12. O volume de tumor e os pesos corporais foram medidos duas vezes por semana.

TABELA 12 GRUPOS E DOSES PARA ESTUDO DE XENOENXERTO HT2-9LUC2.

Grupo	Contagem	Tratamento	Dose (mg/kg)
1	7	PBS	N/A
2	7	CI106	0,5
3	7	CI106	1,5
4	7	CI107	0,5
5	7	CI107	1,5

[0362] A Figura 4, que plota volume de tumor versus dias após dose de tratamento inicial, demonstra um efeito dependente de dose de CI106 e CI107, AAs biespecíficos duplamente mascarados, no crescimento de tumores de xenoenxerto de HT29-luc2. A dose mais eficaz testada foi 1,5 mg/kg, resultando em regressão de tumor. A análise estatística (RMANOVA com Dunnett's vs. controle de PBS) foi executada em GraphPad PRISM. * = $p < 0,05$, ** = $p < 0,01$, **** = $p < 0,0001$.

EXEMPLO 6. AAS BIESPECÍFICOS DUPLAMENTE MASCARADOS E ANTICORPOS BIESPECÍFICOS DAS MODALIDADES REDUZEM O CRESCIMENTO DE TUMORES HCT116 ESTABELECIDOS EM CAMUNDONGOS

[0363] Neste exemplo, CI104 ativado de anticorpo biespecífico, e CI106 e CI107 de BAAs duplamente mascarados que alvejam EGFR e CD3ε foram analisados quanto à capacidade para induzir regressão ou reduzir o crescimento de tumores de xenoenxerto HCT116 estabelecidos em camundongos NSG enxertados com célula T humana. A linhagem celular de câncer de cólon humano HCT116 foi obtida a partir de ATCC e foi cultivada em RPMI + Glutamax + FBS 10% de acordo com procedimentos estabelecidos. O modelo tumoral foi realizado conforme descrito no Exemplo 5. Os camundongos foram dosados de acordo com a Tabela 13.

TABELA 13 GRUPOS E DOSES PARA ESTUDO DE XENOENXERTO HCT116.

Grupo	Contagem	Tratamento	Dose (mg/kg)
1	8	PBS	N/A
2	8	CI106	0,3
3	8	CI106	1,0
4	8	CI107	0,3
5	8	CI107	1,0
6	8	act-104	0,3

[0364] A Figura 5, que plota volume de tumor versus dias após a dose de tratamento inicial, demonstrou um efeito dependente de dose de AAs biespecíficos duplamente mascarados de CI106 e CI107 no crescimento de tumores de xenoenxerto HCT116. A dose mais eficaz testada foi 1,0 mg/kg, resultando em estase de tumor. Act-104 dosado em 0,3 mg/kg também resultou em estase de tumor, que demonstra uma diferença de 3 vezes em eficácia entre anticorpos ativados biespecíficos de protease e duplamente mascarados. A análise estatística (RMANOVA com Dunnett's vs. controle de PBS) foi executada em GraphPad PRISM. * = $p < 0,05$, ** = $p < 0,01$, **** = $p < 0,0001$.

EXEMPLO 7. REATIVIDADE CRUZADA DE AAS BIESPECÍFICOS DUPLAMENTE MASCARADOS PARA CÉLULAS T DE MACACO CINOMOLGO

[0365] Para confirmar que o macaco cinomolgo é uma espécie de toxicidade relevante, CI104 ativado por protease, CI106 e CI107 foram usados num ensaio de ligação de célula com base em citometria de fluxo e um ensaio de citotoxicidade de HT29-luc2 com o uso de células T pan de cinomolgo (BioreclamationIVT) e a potência foi comparada com PBMCs humanas. O protocolo foi conforme descrito nos Exemplos 2 e 3.

[0366] A Figura 6A e a Figura 6B demonstram que as EC50s dos anticorpos ativados biespecíficos de protease e duplamente mascarados

testados num ensaio de citotoxicidade são similares quando as células efetoras humanas (6A) ou de macacos cinomolgos (6B) são usadas. A Figura 6C e a Figura 6D demonstram que a ligação dos anticorpos duplamente mascarados e ativados por protease a células T humanas (6C) e de macacos cinomolgos (6D) é similar.

[0367] Portanto, o macaco cinomolgo foi determinado para ser uma espécie relevante para estudos de tolerabilidade.

EXEMPLO 8. MUTAÇÕES NA REGIÃO FC AFETAM A TOLERABILIDADE DE AAS BIESPECÍFICOS DUPLAMENTE MASCARADOS EM MACACOS CINOMOLGOS

[0368] Neste exemplo, CI079 e CI090 foram dosados em 600 µg/kg em macacos cinomolgos virgens (n=1) para avaliar a tolerabilidade. A dose inicial de 600 µg/kg foi escolhida com base no MTD de CI011 conforme anteriormente estabelecido. Os macacos foram de origem chinesa e estiveram na faixa em peso de 2,5 a 4 kg. Cada animal de estudo foi monitorado por um mínimo de 7 dias. A tolerabilidade foi avaliada com base em sinais clínicos, peso corporal e consumo alimentar. Este estudo foi conduzido em conformidade com procedimentos de operação padrão em SNBL USA, Ltd. (Everett, WA).

[0369] A Tabela 14 descreve observações clínicas que seguem a dosagem de AAs biespecíficos duplamente mascarados de CI079 e CI090 (BAAs) que diferem apenas em suas regiões Fc (Tabela 15). CI079 contém mutações Fc L234F, L235E, e P331S. CI090 contém aquelas mutações Fc e a mutação N297Q. Nenhuma observação clínica foi observada após a dosagem de CI090 em 600 µg/kg, enquanto isto, emese foi observada nas primeiras 24 horas após a dosagem de CI079, que demonstra que as mutações na região Fc contribuem para a tolerabilidade destas moléculas.

TABELA 14

BAA	Dose (μ pk)	Observações
CI079	600	emese durante 1 ^{as} 24 horas
CI090	600	nenhuma observação clínica

TABELA 15

BAA	Máscara & Substrato EGFR	Máscara & Substrato CD3	Fc
CI079	3954 0001	h20GG 0001	Fcmt3
CI090	3954 0001	h20GG 0001	Fcmt4

EXEMPLO 9. TOLERABILIDADE DE BAAS DUPLAMENTE MASCARADOS EM MACACOS CINOMOLGOS

[0370] Neste exemplo, CI106 e CI107 foram dosados em 600, 2000, 4000 μ g/kg (apenas CI107), ou 6000 μ g/kg (apenas CI107) para estabelecer a dose tolerada máxima (MTD) após uma administração de bolo de IV única a macacos cinomolgos virgens (n=1). A dose inicial de 600 μ g/kg foi escolhida com base no MTD de CI011 conforme anteriormente estabelecido. Os macacos foram de origem chinesa e estiveram na faixa em peso de 2,5 a 4 kg. Cada animal de estudo foi monitorado por um mínimo de 7 dias. A tolerabilidade foi avaliada com base em sinais clínicos, peso corporal, consumo alimentar e análises de laboratório que incluíram química de soro, hematologia, análise de citocina, e citometria de fluxo para avaliar a ativação de célula T. O sangue foi coletado para química de soro padrão e análise de hematologia uma vez durante a aclimação e em pré-dose, 48h, 72h (apenas hematologia), e 7 dias após a dose. O sangue foi coletado para análise de citocina antes da dose e em 1h, 4h, 8h, e 24h após a dose. A citometria de fluxo foi realizada em sangue periférico antes da dose, 72h, e 7 dias após a dose. Este estudo foi conduzido em conformidade com procedimentos de operação padrão em SNBL

USA, Ltd. (Everett, WA).

[0371] CI107 dosado em 6000 µg/kg foi fatal em 24 horas após a dose. Nos outros grupos, sinais clínicos anormais incluindo emese e ingestão alimentar reduzida foram observados em macacos cinomolgos tratados com CI106 e CI107 em doses de 2000 µg/kg e acima. Estas constatações, quando presentes, foram transientes e geralmente confinadas ao período pós-dose de 48 h. As constatações de química de soro nestas doses incluíram elevações amenas de alanina transaminase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) em 48 h que não excederam faixas normais. Em animais tratados com CI107 a 2000 e 4000 µg/kg, o total de bilirrubina aumentou fora da faixa normal em 48 horas e foi completamente revertido em torno do dia 8. Em animais tratados tanto com CI106 quanto com CI107, aumentos transientes em citocinas séricas IL-2, IL-6, e IFN γ foram observados após a dosagem e foram resolvidos em 24h após a dose. Um aumento na porcentagem de células T que expressam CD69, Ki67, e PD-1 foi observado em 72 h após a dose e, em geral, a porcentagem de células positivas foi maior para animais tratados com CI107.

[0372] As Figuras 7A a 7C representam a concentração sérica antes da dose, 48 h, e 7 dias após a dose de ALT (7A), AST (7B), e total de bilirrubina (7C). Com a exceção de total de bilirrubina em 2000 e 4000 µg/kg, todos os valores estão dentro das faixas normais estabelecidas para macacos cinomolgos. Apenas os dados pré-dose estiveram disponíveis para CI107 em 6000 µg/kg, e não foram incluídos.

[0373] As Figuras 8A-8C plotam o aumento em níveis de citocina sérica para IL-2 (8A), IL-6 (8B), e IFN-g (8C).

[0374] As Figuras 9A-9C representam a ativação de célula T conforme medida por expressão de CD69 (9A), Ki67 (9B), e PD-1(9B) em células T CD4+.

EXEMPLO 10. AAS BIESPECÍFICOS DUPLAMENTE MASCARADOS SÃO MAIS SEGUROS EM MACACOS CINOMOLGOS DO QUE ANTICORPOS BIESPECÍFICOS ATIVADOS.

[0375] Neste exemplo, CI104 ativado por protease e CI106 e CI107 duplamente mascarados foram dosados em macacos cinomolgos (n=1) em 60, 180 (apenas CI104 ativado), 600, 2000, 4000 µg/kg (apenas CI107), ou 6000 µg/kg (apenas CI107) para comparar a tolerabilidade de anticorpos mascarados e não mascarados seguindo um bolo IV único. A avaliação de tolerabilidade e coletas de sangue foram conforme descrito no Exemplo 9. Os BAAs duplamente mascarados CI106 e CI107 foram tolerados em nível de dose 30 a 60 vezes mais alto do que anticorpo biespecífico ativado por protease.

[0376] As Figuras 10A a E plotam aumentos dependentes de dose em AST em 48h após a dose (10A), ALT em 48h após a dose (10B), IL-6 em 8h após a dose (10C), IFN γ em 8h após a dose (10D), e Ki67 em 72h após a dose (10E). A curva de resposta de dose para todos os parâmetros foi deslocada para os anticorpos duplamente mascarados que indicam tolerabilidade aumentada e efeitos farmacodinâmicos diminuídos em relação ao anticorpo biespecífico ativado por protease. Em algumas modalidades, a curva de resposta de dose de IL-6 foi deslocada em mais do que 60 vezes.

EXEMPLO 11. TOLERABILIDADE DE AAS BIESPECÍFICOS DUPLAMENTE MASCARADOS DE LIGAÇÃO DE EGFR É DEPENDENTE DE EGFR.

[0377] Neste exemplo, o anticorpo biespecífico duplamente mascarado, CI107, que alveja EGFR e CD3 ϵ e CI128, que alveja RSV e CD3 ϵ foram dosados em 2000 µg/kg em macacos cinomolgos (n=1). A avaliação de tolerabilidade e coletas de sangue foram conforme descrito no Exemplo 9 acima. Não houve efeito de CI128 e medidas de toxicidade de órgão aguda (total de bilirrubina) e ativação de célula T (IL-6, PD-1) que demonstra que a toxicidade observada em macaco cinomolgo foi dependente de ligação de EGFR. Estes dados também demonstram que apenas a ligação de CD3 ϵ não foi suficiente para induzir toxicidade.

[0378] As Figuras 11A a 11C comparam os efeitos de CI107 de ligação de EGFR e CI128 de ligação de não EGFR em aumentos no total de bilirrubina (11A), IL-6 (11B), e células T CD4+ que expressam PD-1 (11C).

EXEMPLO 12. HUMANIZAÇÃO DE VARIANTES ANTI-CD3 V12, V16, E V19 QUE TÊM AFINIDADES E POTÊNCIAS DIFERENTES.

[0379] Este exemplo descreve variantes de anticorpo anti-CD3 v12, v16, e v19. Estes três variantes foram derivados do anticorpo parental hSP34

[0380] A humanização de fragmento variável de cadeia única (scFv) de CD3 anti-humano foi realizada por mutação seletiva do framework. Brevemente, CDRs foram enxertadas numa série de arcabouços de IgG humana de cadeia leve (LC) e cadeia pesada (HC) e vários aminoácidos no framework de região variável sofreram mutação seletiva. As imunoglobulinas foram expressadas em todas as combinações possíveis de LC e HC, e, então, avaliadas por nível de expressão, porcentagem de monômero, e afinidade de CD3 com o uso de ELISA e ligação em célula a células Jurkat. As regiões variáveis de combinações desejáveis foram expressadas como scFv no formato de anticorpo biespecífico (TCB) e, então, avaliadas por níveis de expressão, porcentagem de monômero, afinidade de CD3 e função em ensaios de citotoxicidade de célula.

[0381] A afinidade de variante v12, v16, e v19 foi medida com o uso de ressonância de plásmon de superfície (SPR). As superfícies foram HC200m, hidrogel carboxilado com base num policarboxilato sintético linear. Os canais de superfície foram ativados com protocolos de acoplamento de amina EDC/NHS padrão. Os canais 1 e 2 estiveram em branco, os Canais 3 e 4 foram vários anticorpos CD3 anti-humanos. As superfícies foram geradas diluindo-se anticorpos v12, v16, v19 e MM194 a 5 µg/ml em 1,0 ml de Acetato de Sódio 10 mM, pH 4,5.

[0382] A análise cinética foi realizada em PBST (Fosfatos de Sódio 10 mM, pH 7,4, Cloreto de Sódio 150 mM, Tween-20 0,05%) a 20°C. A

regeneração foi uma série de três injeções; uma injeção de 5 µl única de Hidróxido de Sódio 20 mM seguida por duas injeções de 5 µl de Hidróxido de Sódio 10 mM recém-produzido.

[0383] A configuração foi executada com uma diluição em série de 3 vezes inversa que alterna com brancos de tampão. CD3egFc humano foi de Sino Biological Inc., (Beijing, China, nº de catálogo CT041-H0305H) reconstituído com água estéril de uma formulação liofilizada com base em PBS e estabilizadores. As diluições em série com o analito em solução de concentrações que começam em CD3 humano 300 nM ou 100 nM. O processamento foi feito com o software Scrubber.

[0384] Estas variantes também foram manipuladas com o uso de métodos descritos em AAs biespecíficos duplamente mascarados que alvejam EGFR e CD3 e usadas num ensaio de citotoxicidade *in vitro* conforme descrito no exemplo 3.

[0385] A Figura 12A representa as medições de afinidade de v12, v16, e v19 em relação a hSP34. V12 foi a afinidade mais alta em 12nM enquanto v16 foi a afinidade mais baixa em 70nM.

[0386] A Figura 12B representa a citotoxicidade de anticorpos biespecíficos duplamente mascarados ou ativados em células HT29-luc2. Houve diferenças leves na potência de extermínio de célula das moléculas ativadas com v16 sendo a mais potente. Também houve diferenças leves em proteção contra o extermínio de célula para as moléculas duplamente mascaradas.

EXEMPLO 13. BAAS DUPLAMENTE MASCARADOS POSSIBILITAM O PK ESTENDIDO EM MACACOS CINOMOLGOS.

[0387] Neste exemplo, o anticorpo biespecífico ativado por protease act-104 e o anticorpo biespecífico duplamente mascarado CI107 foram dosados em 60 µg/kg, 180 µg/kg (act-104) ou 2000 µg/kg (CI107) em macaco cinomolgo. As amostras de plasma foram coletadas em 5 min (apenas act-104), 30 min, 4h (apenas act-104), 24h, 48h (apenas act-104), 96h, e 168h.

A concentração de plasma foi medida por ELISA com o uso de um anticorpo anti-idiotipo para captura, uma IgG anti-humana (Fc) identificada por peroxidase de rábano silvestre (HRP) para detecção, e visualizada com o uso de 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB). Os valores de concentração de plasma foram interpolados a partir de uma curva padrão e plotados com o uso de GraphPad PRISM. A análise de área sob a curva (AUC) também foi realizada.

[0388] A Figura 13 representa o PK estendido da molécula duplamente mascarada, CI107, em relação à molécula ativada por protease, act-104. A exposição (AUC) de CI107 foi 448 dia*nM e act-104 (60 µg/kg) foi 0,04 dia*nM que representa uma diferença maior do que 10000 vezes em exposição de plasma.

EXEMPLO 14. SENSIBILIDADE À CLIVAGEM DE PROTEASE DE AAS BIESPECÍFICO DUPLAMENTE MASCARADO SE CORRELACIONA À EFICÁCIA DE TUMOR E INFILTRAÇÃO DE CÉLULA T DE TUMOR.

[0389] Este exemplo descreve a eficácia antitumoral e a infiltração de célula T de tumor num modelo de xenoenxerto HT29-luc2. O modelo foi executado conforme descrito no exemplo 5. No estudo de infiltração de célula T tumoral, os camundongos receberam uma dose única de artigo de teste e os tumores foram colhidos 7 dias após a dose. Os blocos incorporados de parafina fixados com formalina (FFPE) foram criados para uso para histologia. Os artigos de teste usados para CI011, CI020 (um anticorpo biespecífico duplamente mascarado desprovido de um substrato clivável), CI040, e CI048. A sensibilidade de protease e a clivabilidade de substrato dos artigos de teste é conforme o seguinte: CI040 > CI011 > CI020. Os camundongos foram dosados de acordo com a Tabela 16.

TABELA 16 GRUPOS E DOSES PARA ESTUDO DE XENOENXERTO HT29-LUC2.

Grupo	Contagem	Tratamento	Dose (mg/kg)	Estudo
1	8	PBS	N/A	Eficácia
2	8	CI011	0,3	Eficácia
3	8	CI020	0,3	Eficácia
4	8	CI040	0,3	Eficácia
5	8	CI048	0,3	Eficácia
6	5	PBS	N/A	Infiltração
7	5	CI011	1,0	Infiltração
8	5	CI020	1,0	Infiltração
9	5	CI040	1,0	Infiltração
10	5	CI048	1,0	Infiltração

[0390] A Figura 14A representa a eficácia num modelo de intervenção de tumor HT29-luc2 em camundongos NSG enxertados com PBMC. A potência antitumoral neste exemplo se correlaciona à sensibilidade de protease e à clivabilidade de substrato dos artigos de teste, com o artigo de teste mais eficaz sendo o CI048 completamente ativado por protease.

[0391] A Figura 14B representa a coloração de seções de tumor para CD3 (coloração escura) como medida do grau de infiltração de célula T em tumores. A infiltração de células T de tumor está correlacionada à sensibilidade de protease e clivabilidade de substrato dos artigos de teste.

EXEMPLO 15. AAS BIESPECÍFICOS DUPLAMENTE MASCARADOS DE SEGUNDA GERAÇÃO SÃO MAIS SEGUROS EM MACACOS CINOMOLGOS DO QUE MOLÉCULAS DE PRIMEIRA GERAÇÃO.

[0392] Neste exemplo, os dados de tolerabilidade de macaco cinomolgo foram comparados para CI011, CI040, CI048 (moléculas de primeira

geração), act-104, CI106, e CI107 (moléculas de segunda geração). Os dados apresentados neste exemplo foram compilados a partir de dois estudos de tolerabilidade de macacos cinomolgos. CI104 e CI048 ativados por protease foram dosados em macacos cinomolgos em 20 (apenas CI048), 60 ou 180 µg/kg (apenas act-104). CI011, CI040, CI106 e CI107 duplamente mascarados foram dosados em 600, 2000, 4000 (apenas CI107), ou 6000 (apenas CI107) µg/kg para comparar a tolerabilidade de anticorpos duplamente mascarados e ativados biespecíficos que seguem um bolo IV único. A avaliação de tolerabilidade foi conforme descrito no Exemplo 8.

[0393] A Tabela 17 resume as observações clínicas que seguem uma dose única de artigo de teste. O anticorpo biespecífico ativado por protease de segunda geração act-104 foi tolerado em dose 2 vezes mais alta do que o anticorpo biespecífico ativado por protease de primeira geração CI048. CI106 e CI107 foram tolerados em dose 30 a 60 vezes mais alta do que os anticorpos de primeira geração CI011 e CI040.

TABELA 17

BAA	Dose (µg/kg)	Observações Clínicas
CI048	20 (n=2) 60	1. Emese e encolhimento de ombros nas 1 ^{as} 24 h 2. Nenhuma Emese em 4 h; encolhimento de ombros que dura 4 dias e inapetência que dura 2 dias; perda de peso de 10%
CI011	600 (n=3) 2000	1. Nenhuma 2. Emese em 4 h, inapetência no dia 4 3. Encolhimento de ombros e inapetência ao longo do dia 5. Perda de peso de 5% Emese nos dias 1 e 2, inapetência nos dias 2 a 4

CI040	600 (n=2) 2000	1. Emese em 4 h 2. Emese em 12 h, inapetência no dia 4 Emese nos dias 1 e 2, moribundo e submetidos à eutanásia no dia 2
act-104 CI104	60 180	Emese e encolhimento de ombros nas 1 ^{as} 24 h Emese severa; encolhimento de ombros, palidez, inapetência que dura 3 dias
CI106	600 2000	nenhum nenhum
CI107	600 2000 4000 6000	Nenhuma Emese, uma vez nas 1 ^{as} 24 h Emese, incidências múltiplas em 1 ^{as} 24 h Emese severa; diarreia sanguínea

EXEMPLO 16. AVALIAÇÃO DE MASCARAR EFICÁCIAS DE ANTICORPOS ANTI-EGFR ATIVÁVEIS

[0394] Mascarar a capacidade de um anticorpo para se ligar ao seu antígeno é um exemplo de inibição de ligação e é enumerado no presente documento como eficácia de mascaramento (ME). O mascaramento da eficácia pode ser calculado como o K_D para ligação do AA dividida pelo K_D para ligação do anticorpo medida sob as mesmas condições. A extensão de inibição é dependente da afinidade do anticorpo para seu antígeno, a afinidade do inibidor (isto é, a porção química de mascaramento) para o anticorpo e a concentração de todos os reagentes. As concentrações locais do peptídeo de porção química de mascaramento conectados (inibidor) são muito mais altas no contexto de AA, na ordem de 10 mM, portanto, os peptídeos de afinidade moderada mascarariam de modo eficaz a ligação de antígeno de AA.

[0395] O esquema geral para este ensaio é conforme o seguinte: As placas Nunc, Maxisorp™ são revestidas de um dia para o outro a 4 °C com

100 µl/poço de uma solução 1 µg/ml de EGFR humano (R e D Systems) em PBS, pH 7,4. As placas são lavadas com 3X de PBST (PBS, pH 7,4, Tween-20 0,05%), e os poços são bloqueados com 200 µl/poço, BSA 10 mg/ml em PBST por 2 horas à RT. As placas são lavadas com 3X de PBST (PBS, pH 7,4, Tween-20 0,05%). As curvas de diluição podem ser preparadas, em BSA 10 mg/ml em PBST, conforme ilustrado abaixo na Tabela 18. Neste exemplo, as concentrações mais altas são 10 nM para o anticorpo parental e 400 nM para os AAs, entretanto, as concentrações de topo podem ser aumentadas ou diminuídas para gerar curvas de ligação de saturação completa para AAs com mascaramento mais forte ou mais fraco.

TABELA 18 CONFIGURAÇÃO DE PLACA PARA MASCARAR ENSAIO DE EFICÁCIA.

	[Anticorpo] = nM Colunas 1 a 3	[AA 1] = nM Colunas 4 a 6	[AA 2] = nM Colunas 7 a 9	[AA 3] = nM Colunas 10 a 12
A	10	400	400	400
B	2	100	100	100
C	0,625	25	25	25
D	0,156	6,25	6,25	6,25
E	0,039	1,56	1,56	1,56
F	0,0097	0,39	0,39	0,39
G	0,0024	0,098	0,098	0,098
H	0,0006	0,024	0,024	0,024

[0396] As soluções de ligação são adicionadas às placas, as quais são, então, incubadas por 1 hora à temperatura ambiente, e, então, lavadas com 3X de PBST (PBS, pH 7,4, Tween-20 0,05%). IgG anti-humana de cabra de diluição 1:4000 100 µl/poço (específica de Fab, nº de Sigma A0293) em BSA 10 mg/ml em PBST é adicionada, e a placa é incubada por 1 hora à

temperatura ambiente. A placa é desenvolvida com TMB e HCl 1N. São mostrados na Figura 15 e na Figura 16 gráficos de isotermas para anticorpos anti-EGFR C225v5 ativáveis da divulgação, para anticorpo anti-EGFR 3954 - 2001-C225v5 ativável, conforme descrito acima, e para anticorpo anti-EGFR C225v5. Os gráficos são gerados em GraphPad PRISM e os dados são ajustados a um modelo de saturação de sítio único e um K_D é determinado. O K_D e os valores de ME são fornecidos na Tabela 19.

TABELA 19 K_D E VALORES DE ME CALCULADOS A PARTIR DOS ISOTERMOS DE LIGAÇÃO MOSTRADOS NA FIGURA 15 E NA FIGURA 16.

	K_D (nM)	ME
3954-2001-C225v5	13	130
CF08-2001-C225v5	0,2	2
CF13-2001-C225v5	0,3	3
CF19-2001-C225v5	27	270
CF22-2001-C225v5	78	780
CF41-2001-C225v5	52	520
CF46-2001-C225v5	1	10

EXEMPLO 17. FARMACOCINÉTICA DE BAAS DUPLAMENTE MASCARADOS EM MACACOS CINOMOLGOS.

[0397] Neste exemplo, o anticorpo biespecífico duplamente mascarado CI107 foi dosado em 600 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 2000 $\mu\text{g}/\text{kg}$, ou 4000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ em macaco cinomolgo. As amostras de plasma foram coletadas em 30 min, 4h (apenas 600 $\mu\text{g}/\text{kg}$), 24h, 48h (apenas 600 e 4000 $\mu\text{g}/\text{kg}$), 96h, e 168h. A concentração de plasma foi medida por ELISA como no exemplo 13.

[0398] A Figura 20 representa o PK do CI107 de BAA duplamente mascarado após uma dose de i.v. única de 600, 2000, ou 4000 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

EXEMPLO 18. CITOTOXICIDADE DEPENDENTE DE EGFR DE

ANTICORPOS ATIVÁVEIS BIESPECÍFICOS DUPLAMENTE MASCARADOS

[0399] Para determinar a possibilidade de o anti-CD3 $\epsilon\epsilon$, máscara CD3, e substratos de protease em CI090 e CI091 poderem atenuar adicionalmente o extermínio de célula em relação a CI011, um ensaio de citotoxicidade foi realizado com o uso do método descrito no Exemplo 3. As titulações dos seguintes anticorpos ativados biespecíficos e anticorpos ativáveis biespecíficos duplamente mascarados foram testadas: CI011, CI090, CI091, CI090 ativado, e CI048. Além disto, CI064 de AAs biespecíficos de ligação sem EGFR foi usado para demonstrar a dependência de EGFR de citotoxicidade.

[0400] A Figura 21 demonstra que extermínio de células EGFR+ HT29-luc2 foi adicionalmente atenuado por CI090 e CI091 em relação a CI011, entretanto, a potência do CI090 ativado é equivalente a CI048. O deslocamento de EC50 de CI090 e CI091 em relação ao anticorpo biespecífico ativado é aumentado representado a eficácia de mascaramento aumentada destas moléculas em relação a CI011. Nenhuma citotoxicidade foi observada quando as células foram tratadas com CI064 que demonstram a dependência de EGFR que alveja o extermínio de célula.

EXEMPLO 19. ATIVAÇÃO DE CÉLULA T PRIMÁRIA POR ANTICORPOS ATIVÁVEIS BIESPECÍFICOS DUPLAMENTE MASCARADOS

[0401] Para determinar se o anti-CD3 ϵ , a máscara de CD3, e os substratos de protease em CI090 e CI091 podem atenuar a ativação de célula T primária em relação a CI011, um ensaio de citometria de fluxo foi realizado conforme descrito no Exemplo 4.

[0402] A Figura 22 demonstra que a ativação de células T CD8+ primárias foi adicionalmente atenuada por CI090 e CI091, em relação a CI011.

EXEMPLO 20. ANTICORPOS ATIVÁVEIS BIESPECÍFICOS DUPLAMENTE MASCARADOS DAS MODALIDADES INDUZIRAM A REGRESSÃO DE TUMORES HT29-LUC2 ESTABELECIDOS EM

CAMUNDONGOS

[0403] Neste exemplo, os anticorpos ativáveis biespecíficos CI011, CI090, e CI091 foram analisados pela capacidade para induzir à regressão ou reduzir o crescimento de tumores de xenoenxerto HT-29-Luc2 estabelecidos em camundongos NSG enxertados com PBMC humana. O método é conforme descrito no Exemplo 5.

TABELA 20 GRUPOS E DOSES PARA ESTUDO DE XENOENXERTO HT-29-LUC2.

Grupo	Contagem	Tratamento	Dose (mg/kg)
1	7	PBS	N/A
2	7	CI011	1,0
3	7	CI090	1,0
4	7	CI091	1,0

[0404] A Figura 23, que plota volume de tumor versus dias após a dose de tratamento inicial, demonstra que uma dose semanal de 1 mg/kg induziu a regressão de tumor para todos os anticorpos ativáveis biespecíficos testados.

EXEMPLO 21. ANTICORPOS ATIVÁVEIS BIESPECÍFICOS DUPLAMENTE MASCARADOS ELICITAM MENOS LIBERAÇÃO DE CITOCINA DO QUE OS ANTICORPOS BIESPECÍFICOS ATIVADOS EM MACACO CINOMOLGO.

[0405] Neste exemplo, CI104 ativado por protease, e CI011 duplamente mascarado, CI090, e CI091 foram dosados em macacos cinomolgos (n=1) em 0,06, 0,18 (CI104 ativado), ou 600 mg/kg (CI011, CI090, CI091). O sangue foi coletado para análise de citocina antes da dose e em 1h, 4h, 8h, e 24h após a dose. As amostras foram analisadas com o uso do Kit Life Technologies Monkey Magnetic 29-Plex Panel (nº de produto LCP0005M). Os dados foram adquiridos num instrumento BioRad BioPlex 200. Esta análise foi

conduzida em conformidade com procedimentos de operação padrão em SNBL USA, Ltd. (Everett, WA).

[0406] A Figura 24 plota os níveis de IL-6 em 8h após a dose. O anticorpo ativável biespecífico duplamente mascarado CI011 induz significativamente menos liberação de citocina do que o CI104 ativado até mesmo quando administrado numa dose mais alta, o que demonstra o efeito de mascaramento na ativação de célula T. IL-6 é até mesmo reduzida em animais tratados com CI090 e CI091, o que reflete a eficácia de mascaramento aumentada destas moléculas em relação a CI011.

OUTRAS MODALIDADES

[0407] Embora a invenção tenha sido descrita em combinação com a descrição detalhada da mesma, a descrição supracitada é destinada a ilustrar e não limitar o escopo da invenção, o que é definido pelo escopo das reivindicações anexas. Outros aspectos, vantagens e modificações estão dentro do escopo a seguir.

REIVINDICAÇÕES

1. Anticorpo ativável biespecífico (BAA) **caracterizado** pelo fato de que o dito BAA, quando ativado, se liga especificamente a dois alvos e compreende a seguinte estrutura:

a. um anticorpo de IgG (AB1) que se liga especificamente a um primeiro alvo em que o AB1 compreende duas cadeias pesadas (HCs de AB1) e duas cadeias leves (LCs de AB1); e em que o AB1 é ligado a uma primeira porção química de mascaramento (MM1) ligada a uma primeira porção química clivável (CM1) para formar um construto MM1-CM1, em que a terminação carboxila de um construto MM1-CM1 é ligada a cada terminação amino de cada cadeia leve do AB1, em que

a MM1 inibe a ligação do AB1 ao seu alvo; e

a CM1 é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma primeira protease,

b. dois scFvs (cada um AB2) que se ligam especificamente a um segundo alvo, em que cada AB2 compreende uma região variável de cadeia leve ligada a uma região variável de cadeia pesada, em que a terminação carboxila de cada AB2 é ligada à terminação amino de cada uma das cadeias pesadas de AB1; e em que cada AB2 é ligado a uma segunda porção química de mascaramento (MM2) ligada a uma segunda porção química clivável (CM2) para formar um construto MM2-CM2, em que a terminação carboxila de cada construto MM2-CM2 é ligada à terminação amino de cada AB2, em que

a MM2 inibe a ligação do AB2 ao seu alvo; e

a CM2 é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma segunda protease,

e em que o BAA tem pelo menos uma das seguintes características:

i. MM2 compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO: 12;

ii. MM1 compreende uma sequência de aminoácidos

selecionada do grupo que consiste em sequências apresentadas na Tabela 7;

iii. AB2 compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2 ou SEQ ID NO: 3 ou um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 4; e

iv. AB1 compreende uma região Fc que compreende uma substituição de aminoácido em pelo menos uma das posições de aminoácido L234, L235, N297, e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o BAA tenha função efetora reduzida.

2. BAA, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que AB2 compreende um domínio variável de cadeia pesada, conforme apresentado na SEQ ID NO: 2 ou SEQ ID NO: 3 e um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 4.

3. BAA, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que o AB1 se liga a um alvo de tumor e o AB2 se liga a um alvo efetor imune.

4. BAA, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, **caracterizado** pelo fato de que o BAA é um AA (TCBAA) biespecífico de engate de célula T (TCB).

5. BAA, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, **caracterizado** pelo fato de que o AB1 se liga a EGFR e o AB2 se liga a CD3 ϵ .

6. BAA, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, **caracterizado** pelo fato de que a MM1 compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em sequências apresentadas na Tabela 7.

7. BAA, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, **caracterizado** pelo fato de que a MM1 compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste na SEQ ID NO: 85 e SEQ ID NO: 78.

8. BAA, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, **caracterizado** pelo fato de que a MM1 compreende a SEQ ID NO: 78.

9. BAA, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, **caracterizado** pelo fato de que a MM2 compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO: 12.

10. BAA, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, **caracterizado** pelo fato de que a CM compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 14.

11. BAA, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, **caracterizado** pelo fato de que a CM compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 17.

12. BAA, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, **caracterizado** pelo fato de que a CM compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 16.

13. BAA, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, **caracterizado** pelo fato de que CM1 compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que compreende a SEQ ID NO: 14 e SEQ ID NO: 16.

14. BAA, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, **caracterizado** pelo fato de que CM2 compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que compreende a SEQ ID NO: 14 e SEQ ID NO: 17.

15. BAA, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 14, **caracterizado** pelo fato de que AB1 compreende substituições de aminoácido em pelo menos duas das posições de aminoácido L234, L235 e P331.

16. BAA, de acordo com a reivindicação 15, **caracterizado** pelo fato de que AB1 compreende as substituições de aminoácido nas posições de aminoácido L234, L235 e P331.

17. BAA, de acordo com a reivindicação 15, **caracterizado** pelo fato de que AB1 compreende substituições de aminoácido L234F, L235E e P331S.

18. BAA, de acordo com a reivindicação 15, **caracterizado** pelo fato de que o AB1 compreende uma região Fc que compreende uma substituição de

aminoácido em N297.

19. BAA, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 14, **caracterizado** pelo fato de que AB1 compreende substituições de aminoácido nas posições de aminoácido L234F, L235E, P331S e N297Q.

20. BAA, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que a cadeia pesada do AB1 compreende qualquer uma das SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75 e SEQ ID NO: 76, conforme apresentado na Tabela 6.

21. CI106 de BAA **caracterizado** pelo fato de que compreende a configuração e a sequência conforme fornecido na Tabela 11 e no Exemplo 1.

22. CI107 de BAA **caracterizado** pelo fato de que compreende a configuração e a sequência conforme fornecido na Tabela 11 e no Exemplo 1.

23. CI079 de BAA **caracterizado** pelo fato de que compreende a configuração e a sequência conforme fornecido na Tabela 11 e no Exemplo 1.

24. CI090 de BAA **caracterizado** pelo fato de que compreende a configuração e a sequência conforme fornecido na Tabela 11 e no Exemplo 1.

25. Anticorpo ativável (AA) **caracterizado** pelo fato de que compreende:

a) um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo (AB) que se liga especificamente à cadeia épsilon de CD3 (CD3 ϵ);

b) uma porção química de mascaramento (MM) acoplada ao AB, em que a MM reduz ou inibe a ligação do AB ao CD3 ϵ quando o AA está num estado não clivado, em que a MM compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO: 12; e

c) uma porção química clivável (CM) acoplada ao AB, em que a CM é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma protease.

26. AA, de acordo com a reivindicação 25, **caracterizado** pelo fato de que a CM compreende qualquer uma das sequências apresentadas na Tabela 4.

27. AA, de acordo com a reivindicação 25, **caracterizado** pelo fato de

que a CM compreende um substrato clivável por uma serina protease ou uma MMP.

28. AA, de acordo com a reivindicação 25, **caracterizado** pelo fato de que a CM compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste na SEQ ID NO: 18-56.

29. AA, de acordo com a reivindicação 25, **caracterizado** pelo fato de que a protease é uma MMP.

30. AA, de acordo com a reivindicação 25, **caracterizado** pelo fato de que a protease é uma serina protease.

31. AA, de acordo com a reivindicação 25, **caracterizado** pelo fato de que a AB que se liga especificamente a CD3 é o anticorpo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 38 a 47.

32. Anticorpo ativável (AA) **caracterizado** pelo fato de que compreende:

a. um anticorpo ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo (AB) que se liga especificamente ao Receptor de Fator de Crescimento Epidérmico (EGFR);

b. uma porção química de mascaramento (MM) acoplada ao AB, em que a MM reduz ou inibe a ligação do AB ao EGFR quando o AA está num estado não clivado, e em que a MM compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nas sequências apresentadas na Tabela 7; e

c. uma porção química clivável (CM) acoplada ao AB, em que a CM é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma protease.

33. AA, de acordo com a reivindicação 32, **caracterizado** pelo fato de que a MM compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 78.

34. AA, de acordo com qualquer uma das reivindicações 32 e 33, **caracterizado** pelo fato de que a CM compreende um substrato clivável por uma serina protease ou uma MMP.

35. AA, de acordo com qualquer uma das reivindicações 32 e 33, **caracterizado** pelo fato de que a CM compreende uma sequência de

aminoácidos selecionada do grupo que consiste na SEQ ID NO: 18-56.

36. AA, de acordo com a reivindicação 32, **caracterizado** pelo fato de que a CM compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 14.

37. AA, de acordo com a reivindicação 32, **caracterizado** pelo fato de que a CM compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 16.

38. Anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo (AB), que se liga especificamente à cadeia épsilon de CD3 (CD3 ϵ), **caracterizado** pelo fato de que o anticorpo compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2 ou SEQ ID NO: 3 ou um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 4.

39. AB, de acordo com a reivindicação 38, **caracterizado** pelo fato de que o anticorpo compreende um domínio variável de cadeia pesada, conforme apresentado na SEQ ID NO: 2 ou SEQ ID NO: 3, e um domínio variável de cadeia leve, conforme apresentado na SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 4.

40. AB, de acordo com a reivindicação 38, **caracterizado** pelo fato de que compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2.

41. AB, de acordo com a reivindicação 38, **caracterizado** pelo fato de que compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 3.

42. AB, de acordo com a reivindicação 38, **caracterizado** pelo fato de que o anticorpo compreende um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1.

43. AB, de acordo com a reivindicação 38, **caracterizado** pelo fato de que compreende um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 4.

44. AB, de acordo com a reivindicação 38, **caracterizado** pelo fato de que compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2 e um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado

na SEQ ID NO: 1.

45. AB, de acordo com a reivindicação 38, **caracterizado** pelo fato de que compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 3 e um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1.

46. AB, de acordo com a reivindicação 38, **caracterizado** pelo fato de que compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 3 e um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 4.

47. AB, de acordo com a reivindicação 38, **caracterizado** pelo fato de que compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2 e um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 4.

48. AB, de acordo com qualquer uma das reivindicações 32 a 47, **caracterizado** pelo fato de que o AB é um AB biespecífico.

49. AA, de acordo com qualquer uma das reivindicações 32 a 47, **caracterizado** pelo fato de que o anticorpo é um scFv.

50. AA, de acordo com qualquer uma das reivindicações 32 a 47, **caracterizado** pelo fato de que o anticorpo é um anticorpo de IgG1.

51. Anticorpo ativável (AA) **caracterizado** pelo fato de que compreende:

a) um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo (AB) que se liga especificamente à cadeia épsilon de CD3 (CD3 ϵ , em que o anticorpo que compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2 ou SEQ ID NO: 3 ou compreende um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 4;

b) uma porção química de mascaramento (MM) acoplada ao AB, em que a MM reduz ou inibe a ligação do AB ao CD3 ϵ quando o AA está num estado não clivado; e

c) uma porção química clivável (CM) acoplada ao AB, em que a CM é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma protease.

52. AA, de acordo com a reivindicação 51, **caracterizado** pelo fato de que o AB compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2.

53. AA, de acordo com a reivindicação 51, **caracterizado** pelo fato de que o AB compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 3.

54. AA, de acordo com a reivindicação 51, **caracterizado** pelo fato de que o AB compreende um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1.

55. AA, de acordo com a reivindicação 51, **caracterizado** pelo fato de que o AB compreende um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 4.

56. AA, de acordo com a reivindicação 51, **caracterizado** pelo fato de que o AB compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2 e um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1.

57. AA, de acordo com a reivindicação 51, **caracterizado** pelo fato de que o AB compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 3 e um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 1.

58. AA, de acordo com a reivindicação 51, **caracterizado** pelo fato de que o AB compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 2 e um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 4.

59. AA, de acordo com a reivindicação 51, **caracterizado** pelo fato de que o AB compreende um domínio variável de cadeia pesada conforme apresentado na SEQ ID NO: 3 e um domínio variável de cadeia leve conforme apresentado na SEQ ID NO: 4.

60. AA, de acordo com qualquer uma das reivindicações 51 a 59, **caracterizado** pelo fato de que a MM compreende qualquer uma das sequências apresentadas na Tabela 3.

61. AA, de acordo com qualquer uma das reivindicações 51 a 59, **caracterizado** pelo fato de que a CM compreende qualquer uma das sequências apresentadas na Tabela 4.

62. Anticorpo ativável biespecífico (BAA) **caracterizado** pelo fato de que compreende qualquer um dos AAs, de acordo com as reivindicações 51 a 61.

63. Anticorpo ativável (AA) **caracterizado** pelo fato de que compreende:

a. um anticorpo (AB) que se liga especificamente a um alvo, em que o anticorpo é um anticorpo de IgG1, e em que a região Fc do anticorpo compreende uma substituição de aminoácido em posições de aminoácido L234, L235, e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o AA tenha função efetora reduzida;

b. uma porção química de mascaramento (MM) acoplada ao AB, em que a MM reduz ou inibe a ligação do AB ao alvo quando o AA está num estado não clivado; e

c. uma porção química clivável (CM) acoplada ao AB, em que a CM é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma protease.

64. AA, de acordo com a reivindicação 63, **caracterizado** pelo fato de que a região Fc compreende substituições de aminoácido em pelo menos posições de aminoácido L234, L235, N297 e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o AA tenha função efetora reduzida.

65. AA, de acordo com a reivindicação 63 ou 64, **caracterizado** pelo fato de que o alvo é selecionado do grupo que consiste nos alvos apresentados na Tabela 9.

66. Anticorpo ativável biespecífico (BAA) **caracterizado** pelo fato de

que compreende:

a. um anticorpo de IgG (AB1) que se liga especificamente a um primeiro alvo em que o AB1 compreende duas cadeias pesadas (HCs de AB1) e duas cadeias leves (LCs de AB1); e em que o AB1 é ligado a uma primeira porção química de mascaramento (MM1) ligada a uma primeira porção química clivável (CM1) para formar um construto MM1-CM1, em que a terminação carboxila de um construto MM1-CM1 é ligada a cada terminação amino de cada cadeia leve do AB1, em que

a MM1 inibe a ligação do AB1 ao seu alvo; e

a CM1 é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma primeira protease,

b. dois scFvs (sendo que cada um é um AB2) que se liga especificamente a um segundo alvo, em que cada AB2 compreende uma região variável de cadeia pesada ligada a uma região variável de cadeia leve, em que a terminação carboxila de cada AB2 é ligada à terminação amino de cada uma das cadeias pesadas de AB1; e em que cada AB2 é ligado a uma segunda porção química de mascaramento (MM2) ligada a uma segunda porção química clivável (CM2) para formar um construto MM2-CM2, em que a terminação carboxila de cada construto MM2-CM2 é ligado à terminação amino de cada AB2, em que

a MM2 inibe a ligação do AB2 ao seu alvo; e

a CM2 é um polipeptídeo que funciona como um substrato para uma segunda protease,

e em que o AB1 compreende uma região Fc que compreende uma substituição de aminoácido em pelo menos uma das posições de aminoácido L234, L235, N297, e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o BAA tenha função efetora reduzida.

67. BAA, de acordo com a reivindicação 66, **caracterizado** pelo fato de que a região Fc compreende substituições de aminoácido em pelo menos

posições de aminoácido L234, L235, N297 e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o BAA tenha função efetora reduzida.

68. BAA, de acordo com a reivindicação 66, **caracterizado** pelo fato de que a região Fc compreende substituições de aminoácido em pelo menos posições de aminoácido L234, L235, e P331, conforme numerado pelo índice EU conforme apresentado em Kabat, de modo que o BAA tenha função efetora reduzida.

69. BAA, de acordo com qualquer uma das reivindicações 66 a 68, **caracterizado** pelo fato de que o primeiro alvo é selecionado do grupo que consiste nos alvos apresentados na Tabela 9 e o segundo alvo é selecionado do grupo que consiste nos alvos apresentados na Tabela 9.

70. AA ou BAA, de acordo com qualquer uma das reivindicações, **caracterizado** pelo fato de que o fragmento de ligação ao antígeno do mesmo é selecionado do grupo que consiste num fragmento Fab, um fragmento F(ab')₂, um scFv, um scAb, um dAb, um anticorpo de cadeia pesada de domínio único, e um anticorpo de cadeia leve de domínio único.

71. AA ou BAA, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado** pelo fato de que o anticorpo é um anticorpo de roedor, um anticorpo quimérico, um anticorpo humanizado, ou um anticorpo monoclonal completamente humano.

72. AA, de acordo com qualquer uma das reivindicações 32 a 37 e 51 a 71, **caracterizado** pelo fato de que o AA é um BAA.

73. Composição farmacêutica **caracterizada** pelo fato de que compreende o anticorpo, AA ou BAA, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 72, e opcionalmente um carreador.

74. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 73, **caracterizada** pelo fato de que compreende um agente adicional.

75. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 74, **caracterizada** pelo fato de que o agente adicional é um agente terapêutico.

76. Molécula de ácido nucleico isolado **caracterizada** pelo fato de que codifica o anticorpo, AA, ou BAA, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 72.

77. Vetor **caracterizado** pelo fato de que compreende a molécula de ácido nucleico isolado, de acordo com a reivindicação 76.

78. Vetor **caracterizado** pelo fato de que compreende a sequência de ácido nucleico de pLW289.

79. Vetor **caracterizado** pelo fato de que compreende a sequência de ácido nucleico de pLW246.

80. Vetor **caracterizado** pelo fato de que compreende a sequência de ácido nucleico de pLW307.

81. Vetor **caracterizado** pelo fato de que compreende a sequência de ácido nucleico de pLW291.

82. Célula **caracterizada** pelo fato de que compreende qualquer um dos vetores, de acordo com as reivindicações 77 a 81.

83. Célula **caracterizada** pelo fato de que compreende pLW289 e pLW246.

84. Célula **caracterizada** pelo fato de que compreende pLW307 e pLW291.

85. Método para produzir o anticorpo, AA ou BAA, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 72, **caracterizado** pelo fato de que isto é feito por meio do cultivo de uma célula sob condições que levam à expressão do anticorpo, AA, ou BAA, em que a célula compreende a molécula de ácido nucleico, de acordo com a reivindicação 76, ou o vetor, de acordo com qualquer uma das reivindicações 78 a 81.

86. Método para tratar, amenizar um sintoma, ou atrasar o progresso de um distúrbio ou doença **caracterizado** pelo fato de que compreende administrar uma quantidade terapeuticamente eficaz do anticorpo, AA, ou BAA, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 72, ou a composição farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 73 a 75, a um

indivíduo que necessita do mesmo.

87. Método, de acordo com a reivindicação 86, **caracterizado** pelo fato de que o distúrbio ou doença compreende células de doença que expressam EGFR.

88. Método, de acordo com as reivindicações 86 ou 87, **caracterizado** pelo fato de que o distúrbio ou doença é câncer.

89. Método, de acordo com a reivindicação 88, **caracterizado** pelo fato de que o câncer é câncer anal, carcinoma de célula basal, câncer de cérebro, câncer de bexiga, câncer de mama, câncer ósseo, câncer cervical, colangiocarcinoma, câncer colorretal, câncer de endométrio, câncer esofágico, câncer de vesícula biliar, câncer gástrico, glioblastoma, câncer de cabeça e pescoço, câncer de fígado, câncer de pulmão, câncer de ovário, câncer pancreático, câncer de próstata, câncer renal, sarcoma, carcinoma de intestino delgado, câncer de célula escamosa, câncer de pele, câncer testicular, câncer de tireoide ou câncer uterino.

90. Método para inibir a angiogênese num indivíduo **caracterizado** pelo fato de que compreende administrar uma quantidade terapêuticamente eficaz do anticorpo, AA, ou BAA, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 72, ou a composição farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 73 a 75, a um indivíduo que necessita do mesmo.

91. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 86 a 90, sendo que o método é **caracterizado** pelo fato de que compreende administrar um agente adicional.

92. Método, de acordo com a reivindicação 91, **caracterizado** pelo fato de que o agente adicional é um agente terapêutico.

93. Método para reduzir danos ao tecido saudável causado por um anticorpo que se liga ao seu alvo em tecido saudável, assim como em tecido com doença, **caracterizado** pelo fato de que o método compreende administrar a um indivíduo que necessita do mesmo um AA ou BAA ou uma composição farmacêutica que compreende um AA ou BAA, em que o dito AA ou BAA é um

AA ou BAA, de acordo com qualquer uma das reivindicações fornecidas no presente documento.

94. Método para melhorar a tolerabilidade de um tratamento de anticorpo **caracterizado** pelo fato de que compreende administrar a um indivíduo que necessita do mesmo um AA ou BAA ou uma composição farmacêutica que compreende um AA ou BAA, em que o dito AA ou BAA é um AA ou BAA, de acordo com qualquer uma das reivindicações fornecidas no presente documento.

95. Método para recrutar célula T ao tecido de tumor **caracterizado** pelo fato de que compreende administrar a um indivíduo que necessita do mesmo um AA ou BAA ou uma composição farmacêutica que compreende um AA ou BAA, em que o dito AA ou BAA é um AA ou BAA, de acordo com qualquer uma das reivindicações fornecidas no presente documento.

96. Anticorpo, AA, ou BAA, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 72, ou composição farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 73 a 75, **caracterizado** pelo fato de que é para ser usado como um medicamento.

97. Anticorpo, AA, ou BAA, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 72, ou composição farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 73 a 75, **caracterizado** pelo fato de que é para ser usado no método para tratar, amenizar um sintoma, ou atrasar o progresso de um distúrbio ou doença, em que o distúrbio ou doença compreende as células de doença que expressam EGFR.

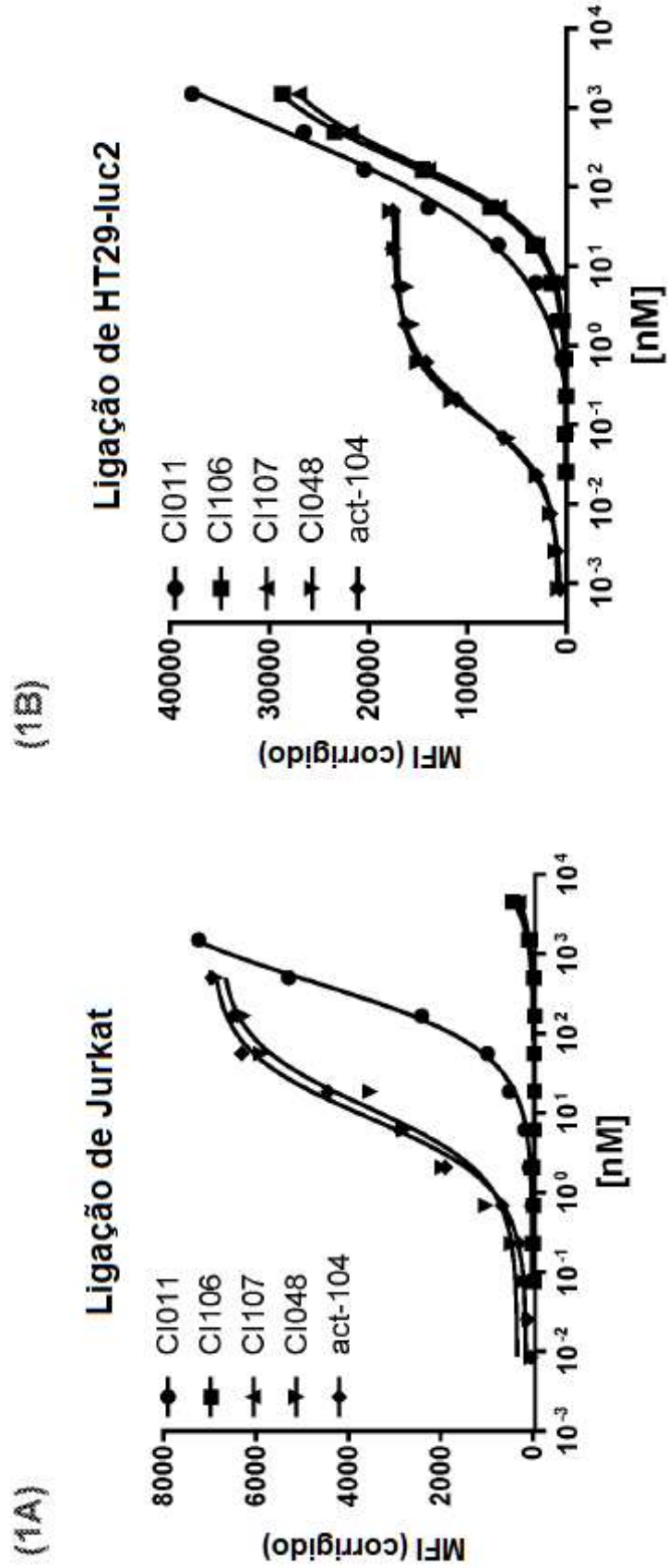
98. Anticorpo, AA, ou BAA, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 72, ou composição farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 73 a 75, **caracterizado** pelo fato de que é para ser usado num método para tratar câncer; opcionalmente em que o câncer é câncer anal, carcinoma de célula basal, câncer de cérebro, câncer de bexiga, câncer de mama, câncer ósseo, câncer cervical, colangiocarcinoma, câncer colorretal, câncer de endométrio, câncer esofágico, câncer de vesícula biliar, câncer

gástrico, glioblastoma, câncer de cabeça e pescoço, câncer de fígado, câncer de pulmão, câncer de ovário, câncer pancreático, câncer de próstata, câncer renal, sarcoma, carcinoma de intestino delgado, câncer de célula escamosa, câncer de pele, câncer testicular, câncer de tireoide ou câncer uterino.

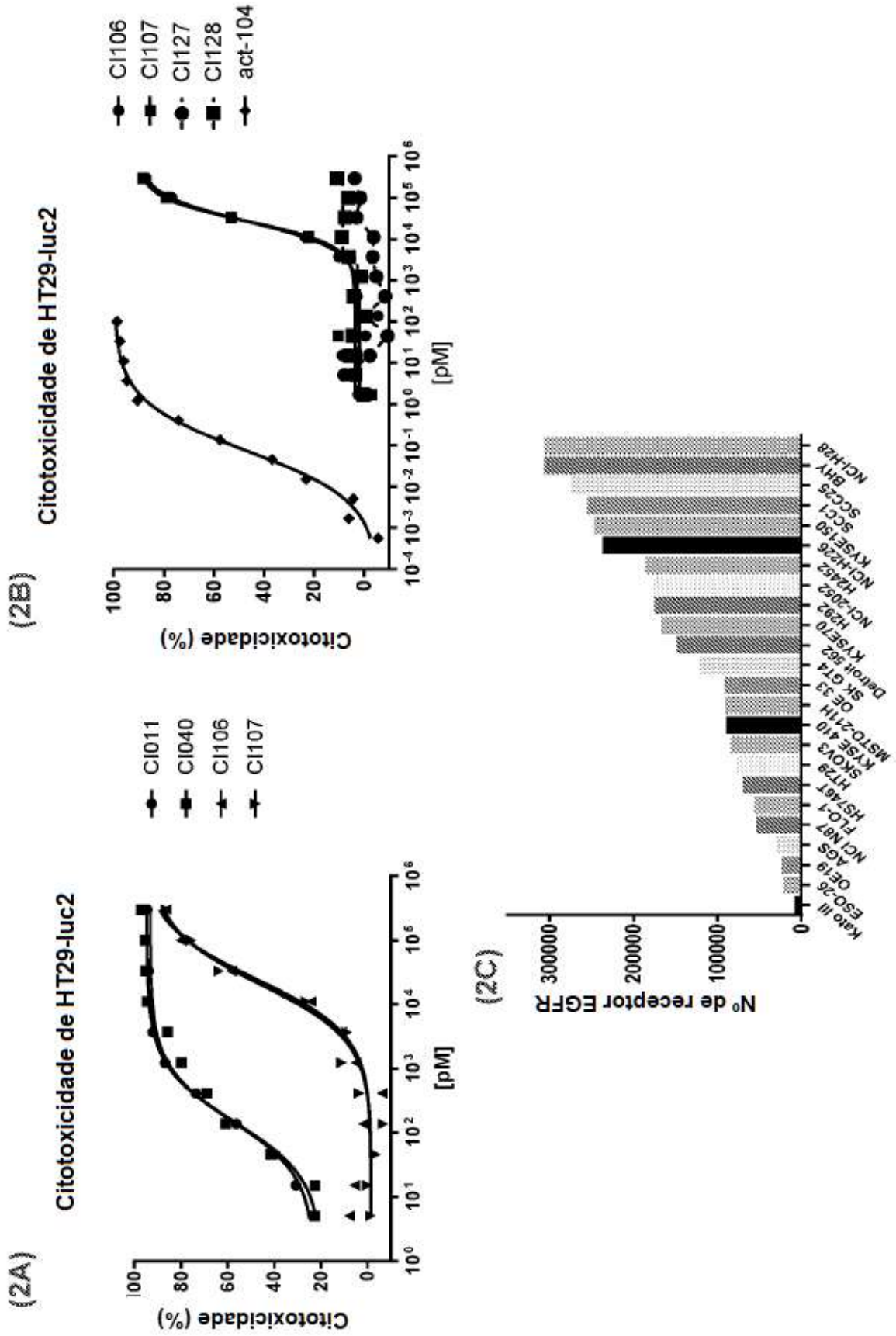
99. Anticorpo, AA, ou BAA, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 72, ou composição farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 73 a 75, para uso num método de tratamento **caracterizado** pelo fato de que o método compreende inibir a angiogênese.

100. Anticorpo, AA, ou BAA ou composição farmacêutica para uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 96 a 99, **caracterizado** pelo fato de que o uso compreende administrar um agente adicional, opcionalmente em que o agente adicional é um agente terapêutico.

FIGS. 1A-1B



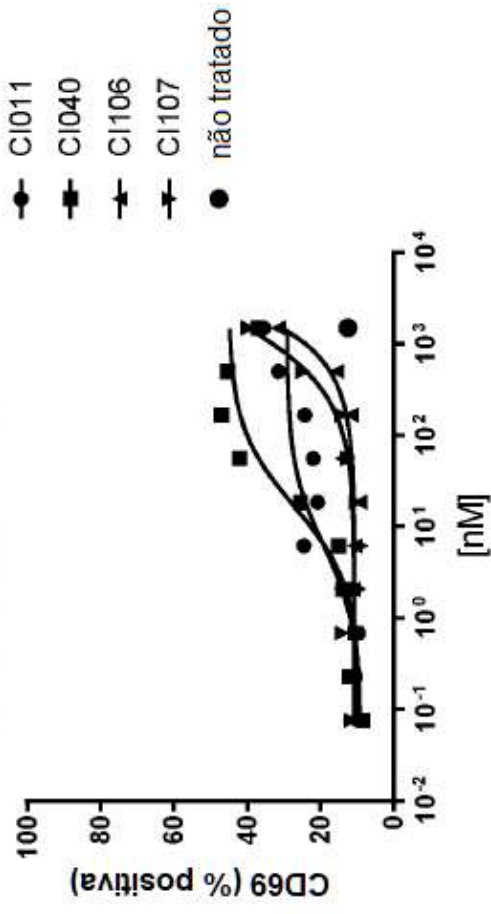
FIGS. 2A-2C



FIGS. 3A-B

(3A)

Ativação de célula CD8 T



(3B)

Ativação de célula CD8 T

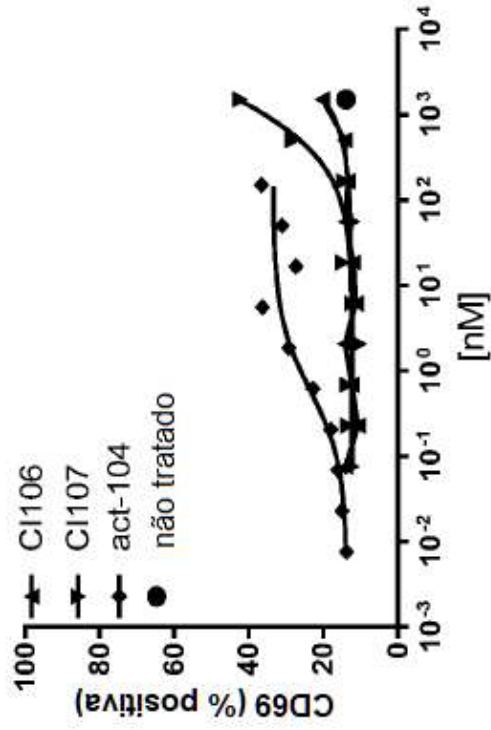
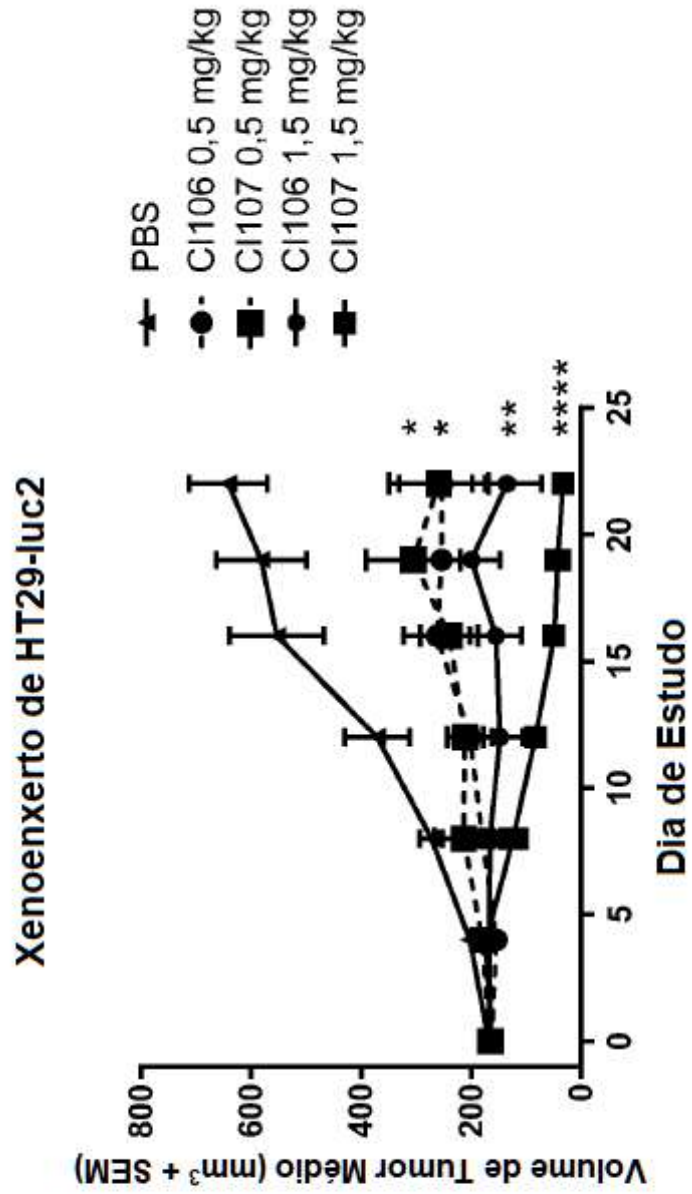


FIG. 4



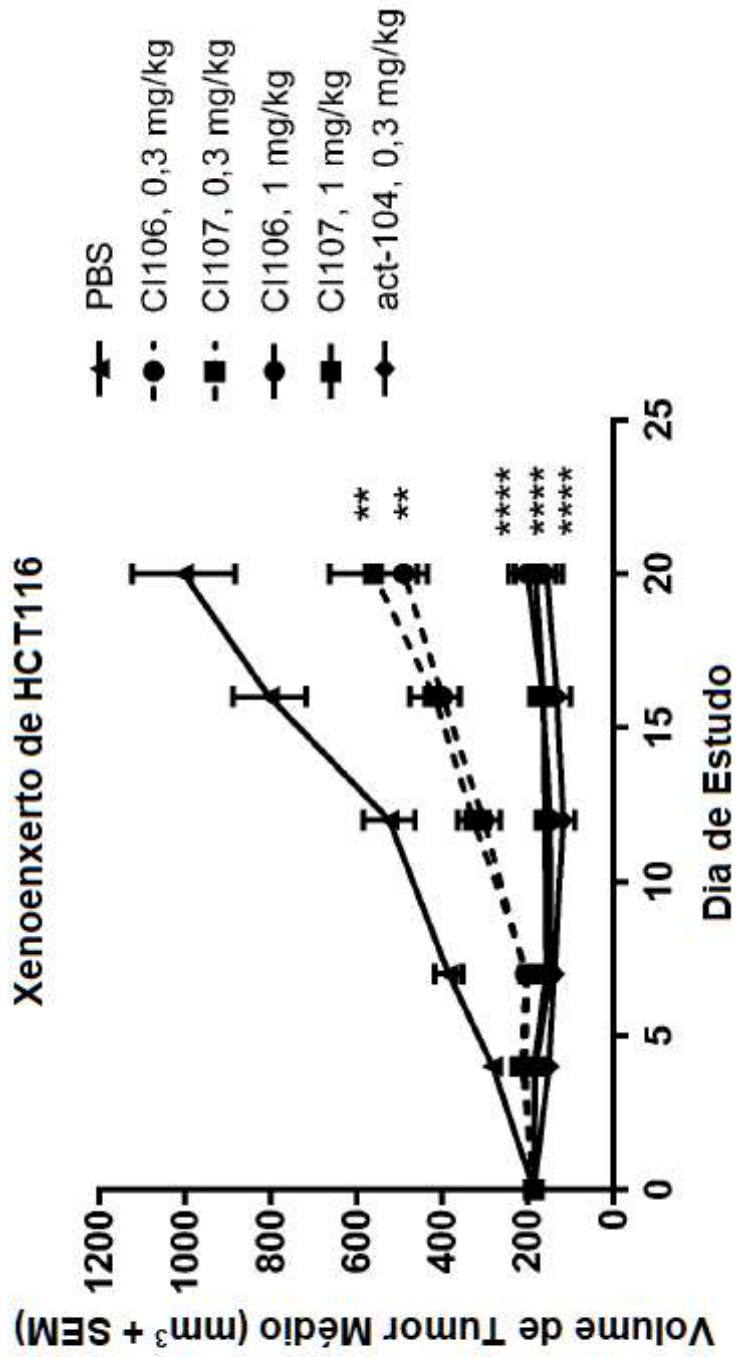
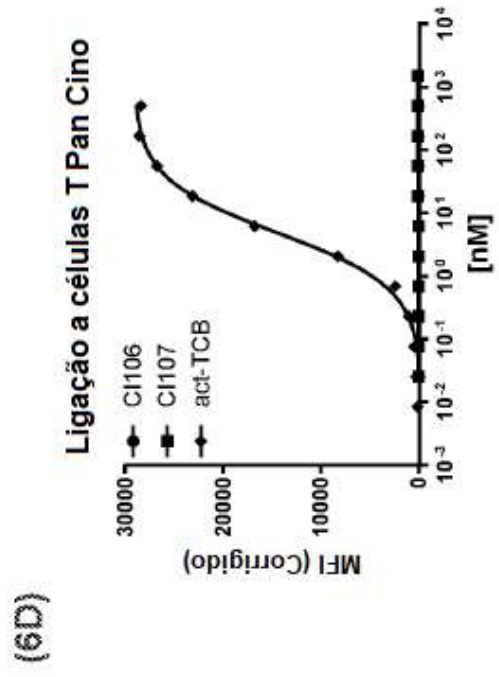
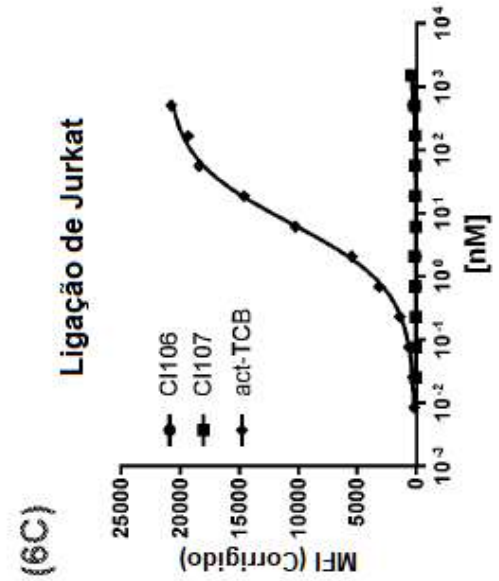
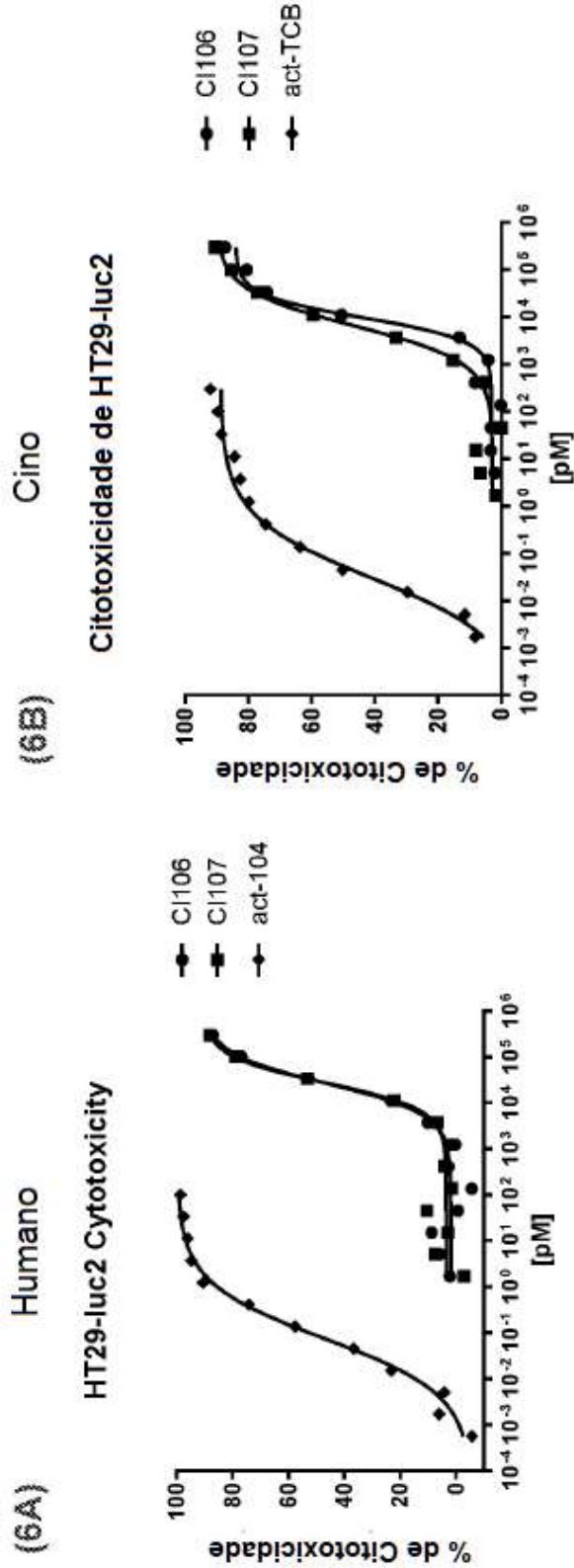


FIG. 5

FIGS. 6A-6D



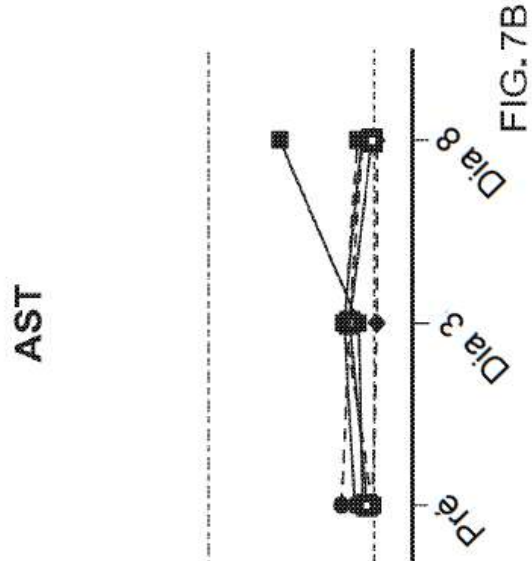


FIG. 7B

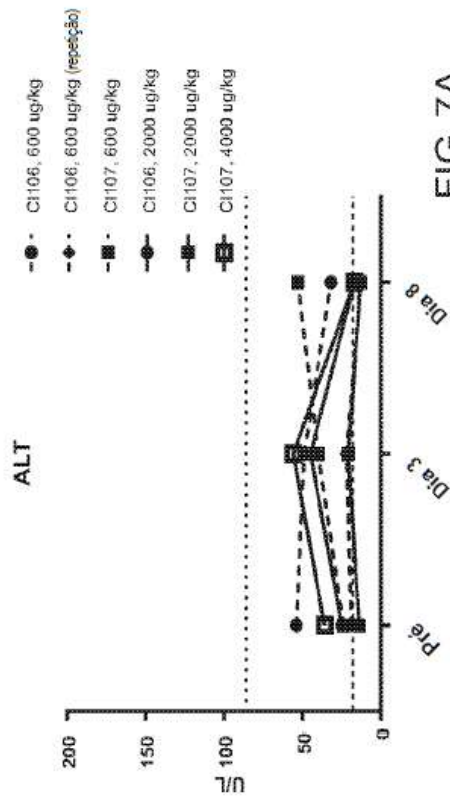


FIG. 7A

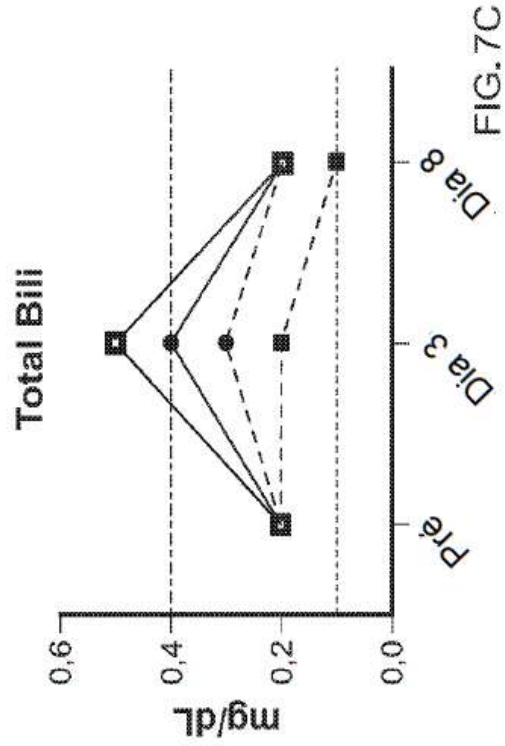


FIG. 7C

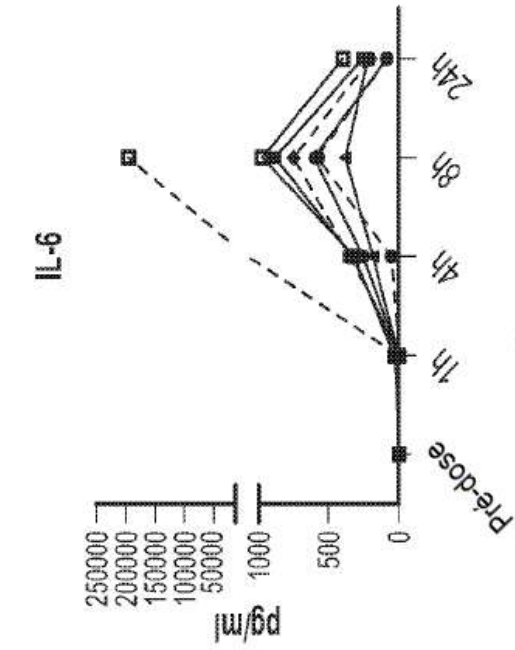


FIG. 8B

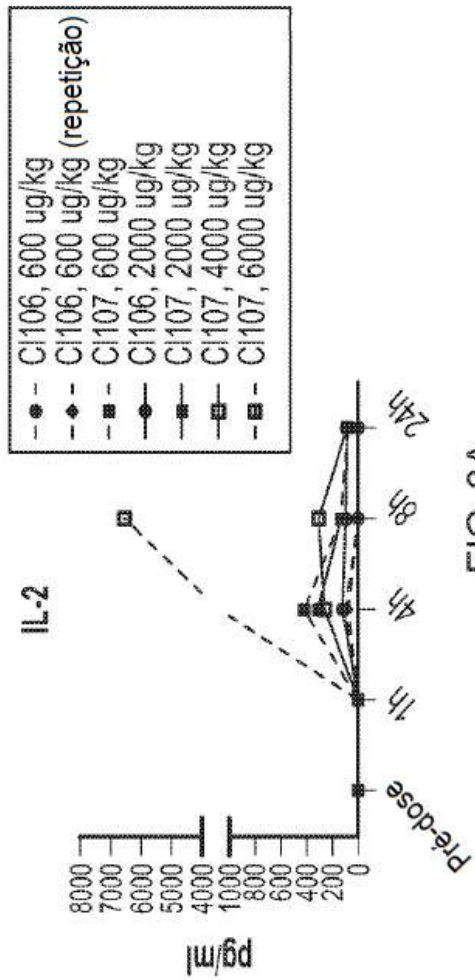


FIG. 8A

- CI106, 600 ug/kg
- ◆ CI106, 600 ug/kg (repetição)
- CI107, 600 ug/kg
- CI106, 2000 ug/kg
- ◆ CI107, 2000 ug/kg
- CI107, 4000 ug/kg
- CI107, 6000 ug/kg

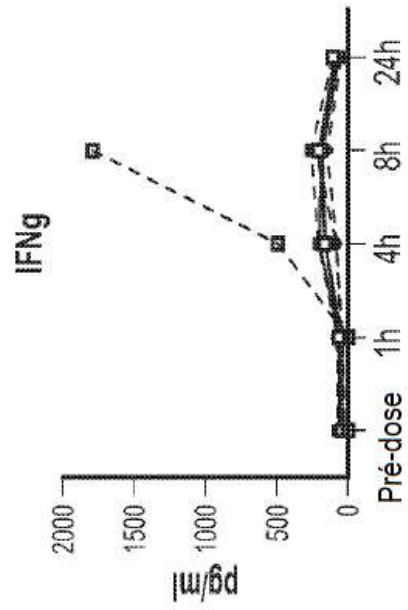


FIG. 8C

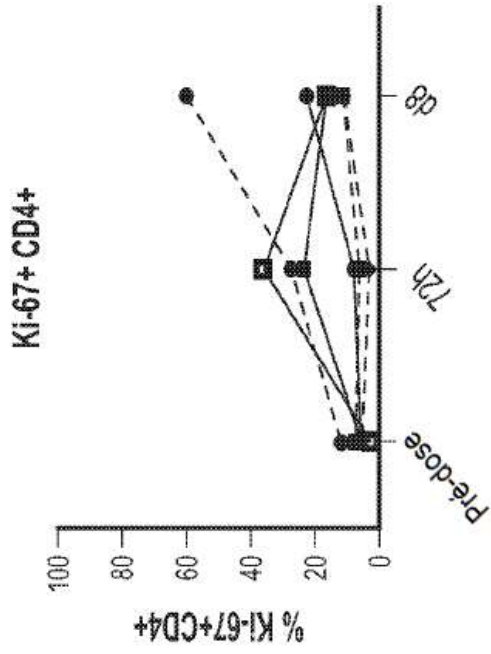


FIG. 9B

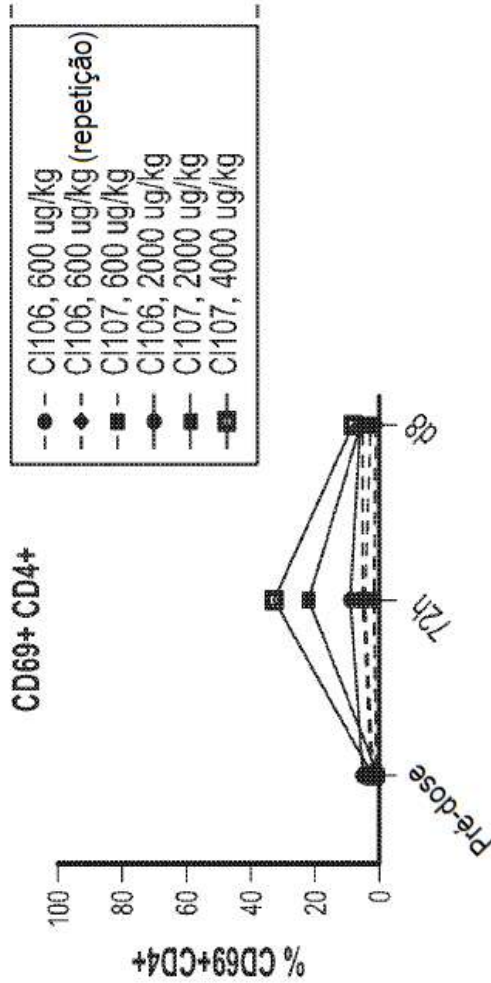


FIG. 9A

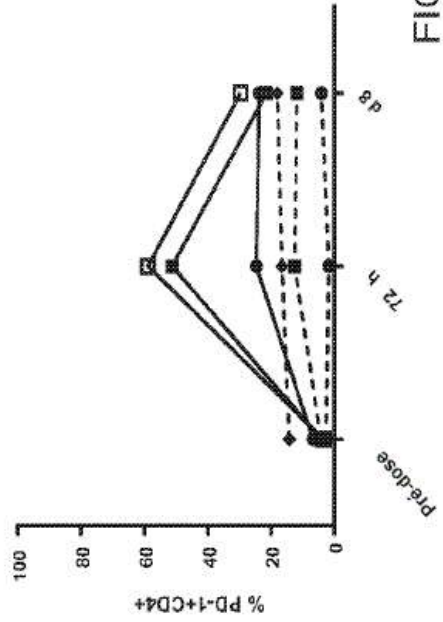
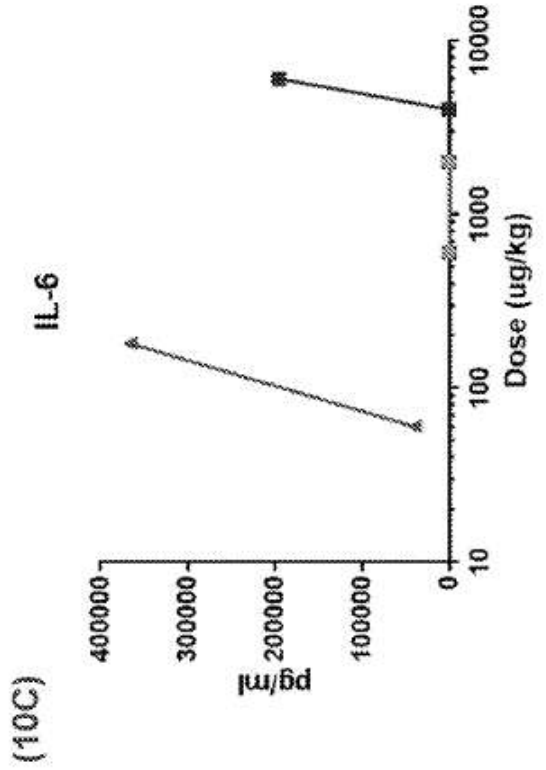
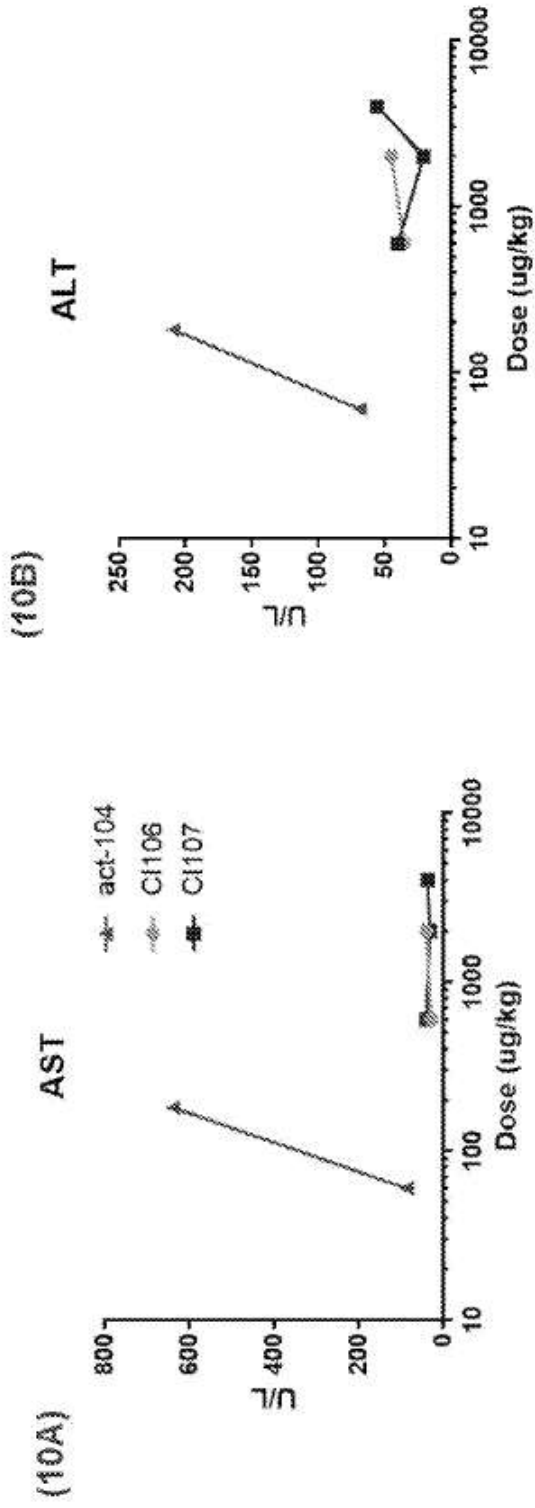
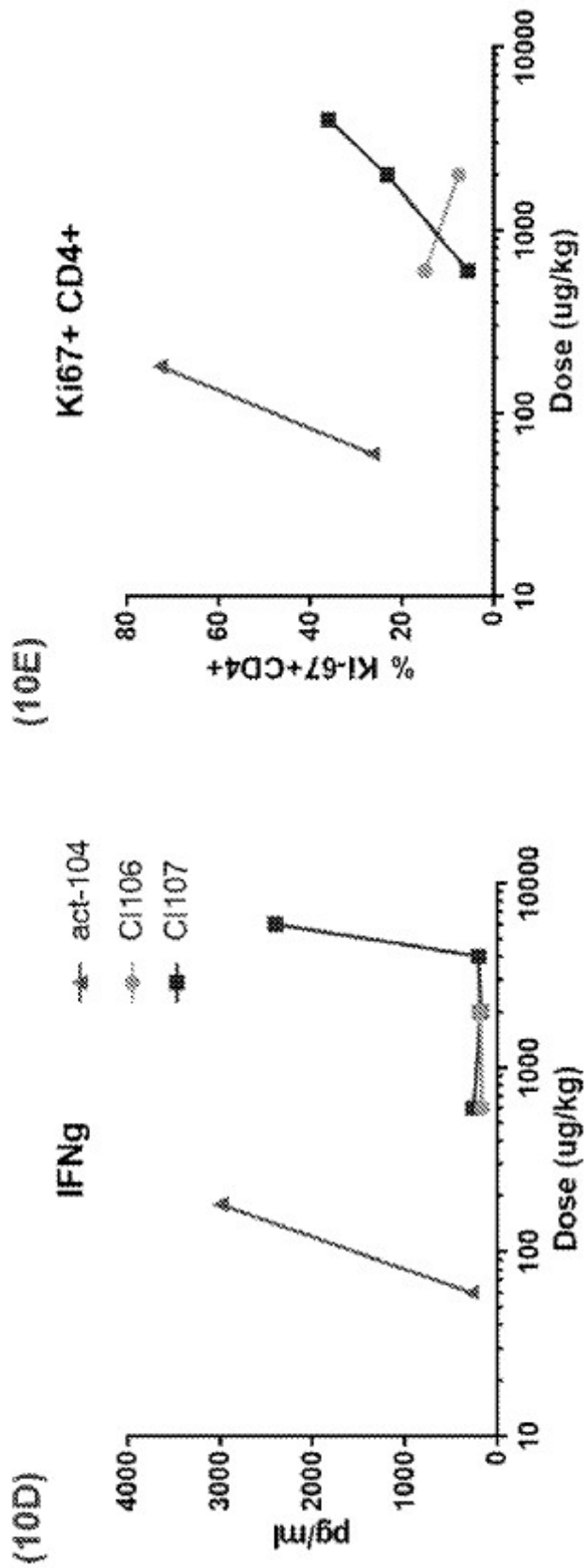


FIG. 9C

FIGS. 10A-C



FIGS. 10D-E



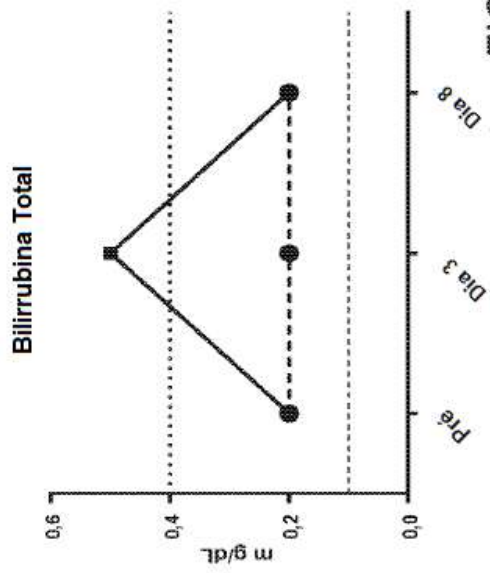


FIG.11A

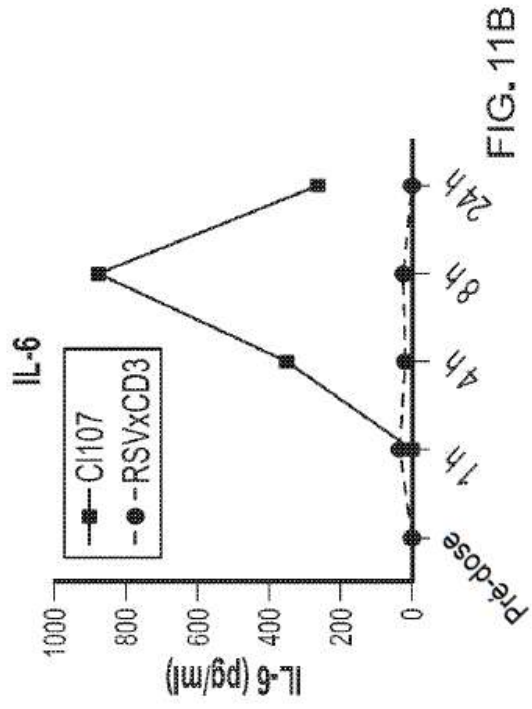


FIG.11B

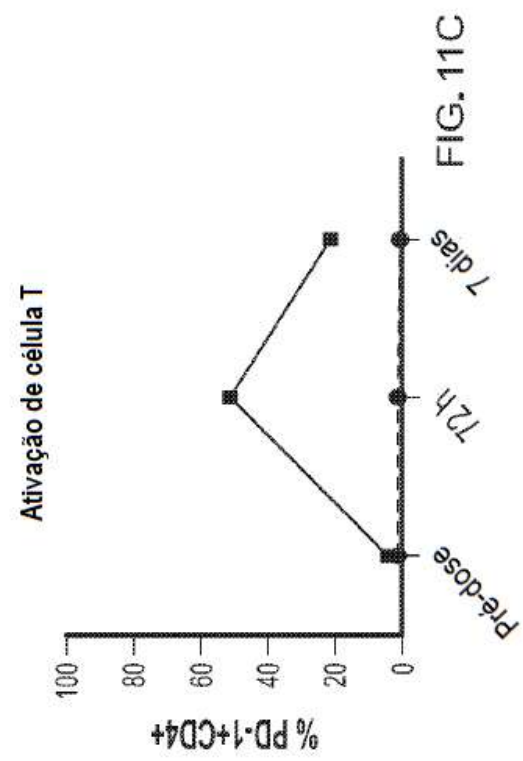


FIG.11C

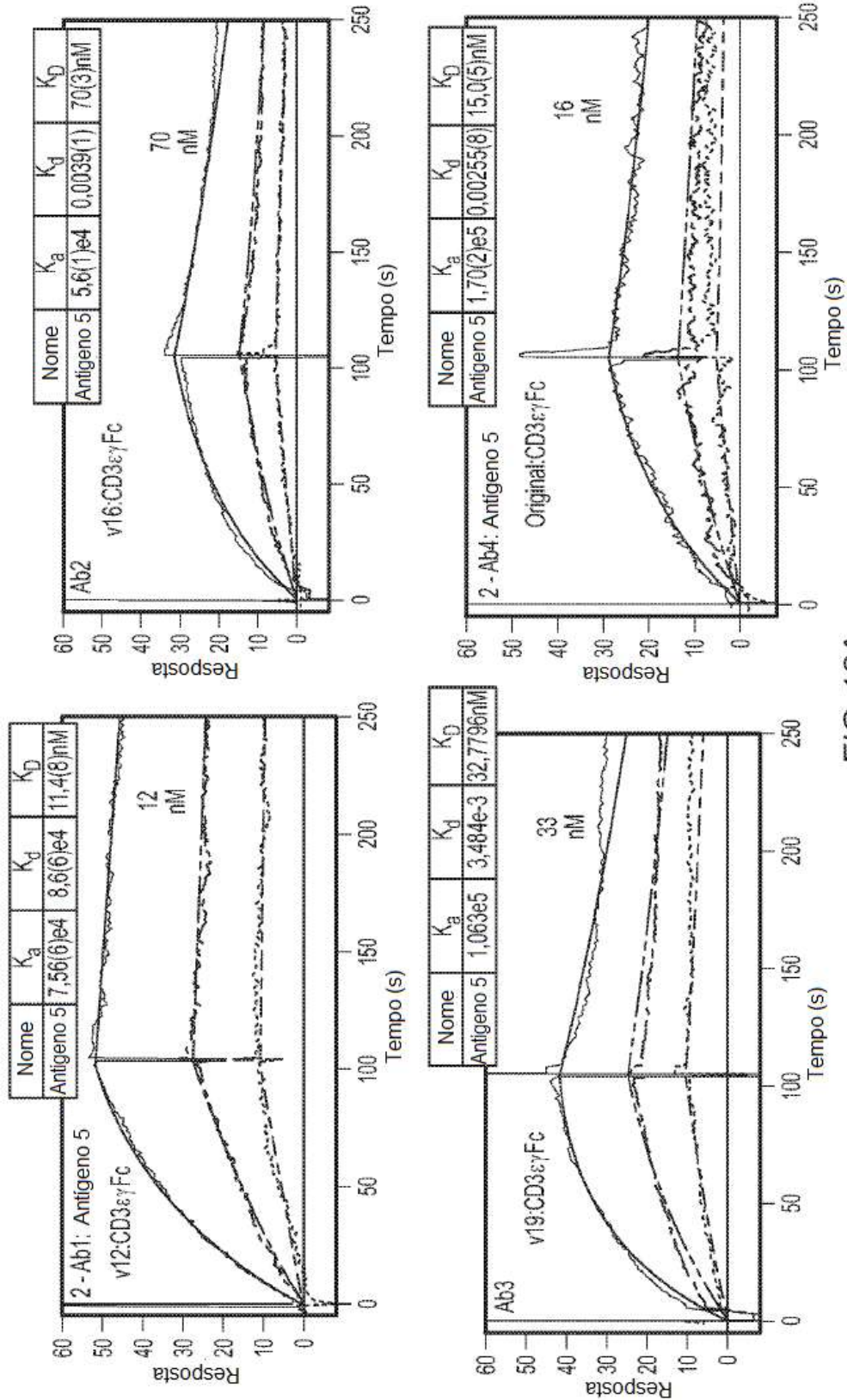


FIG. 12A

Citotoxicidade de HT29

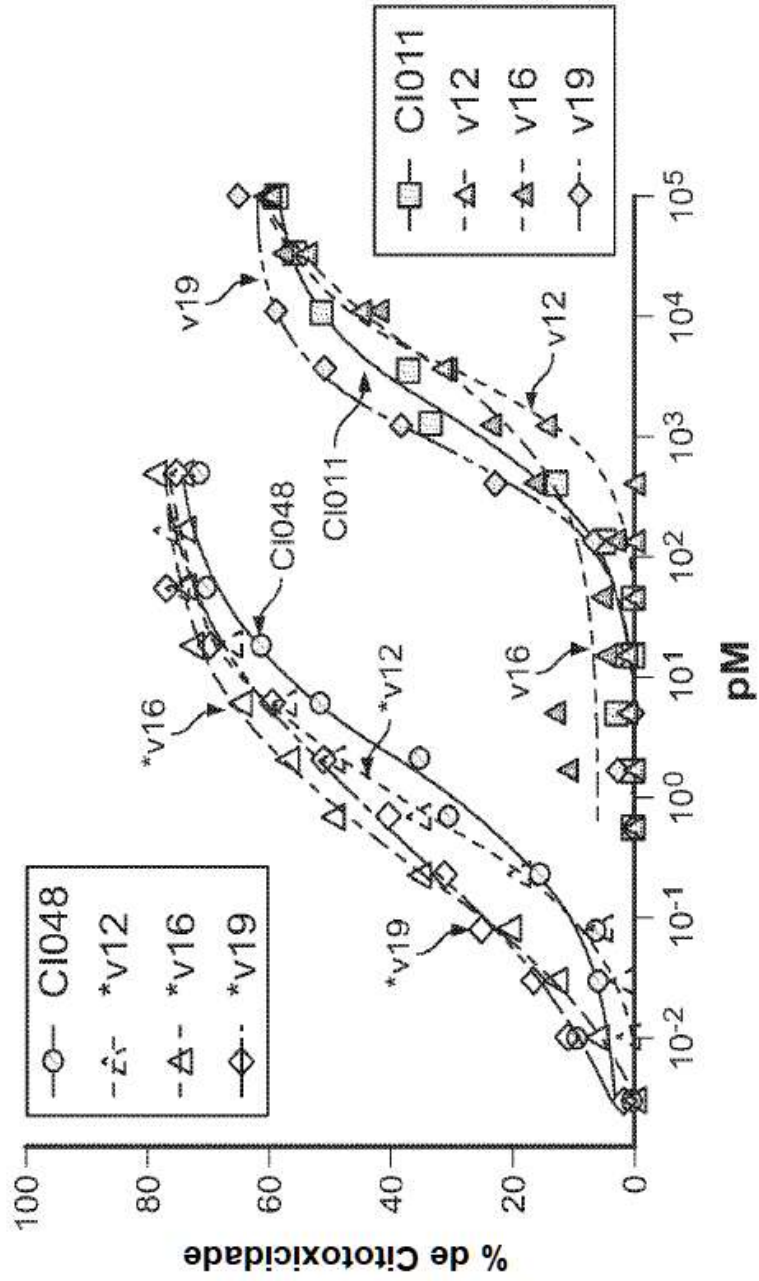
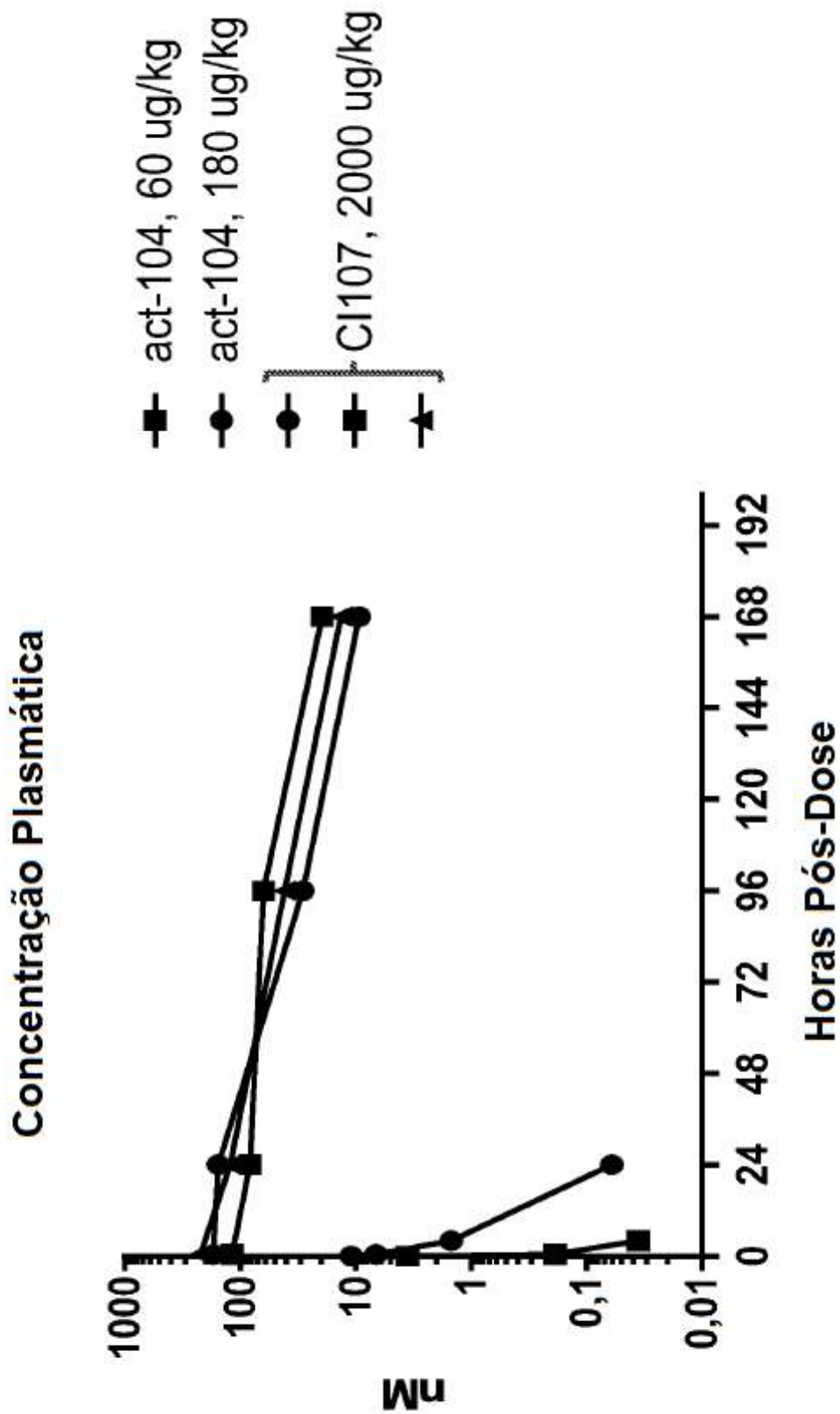
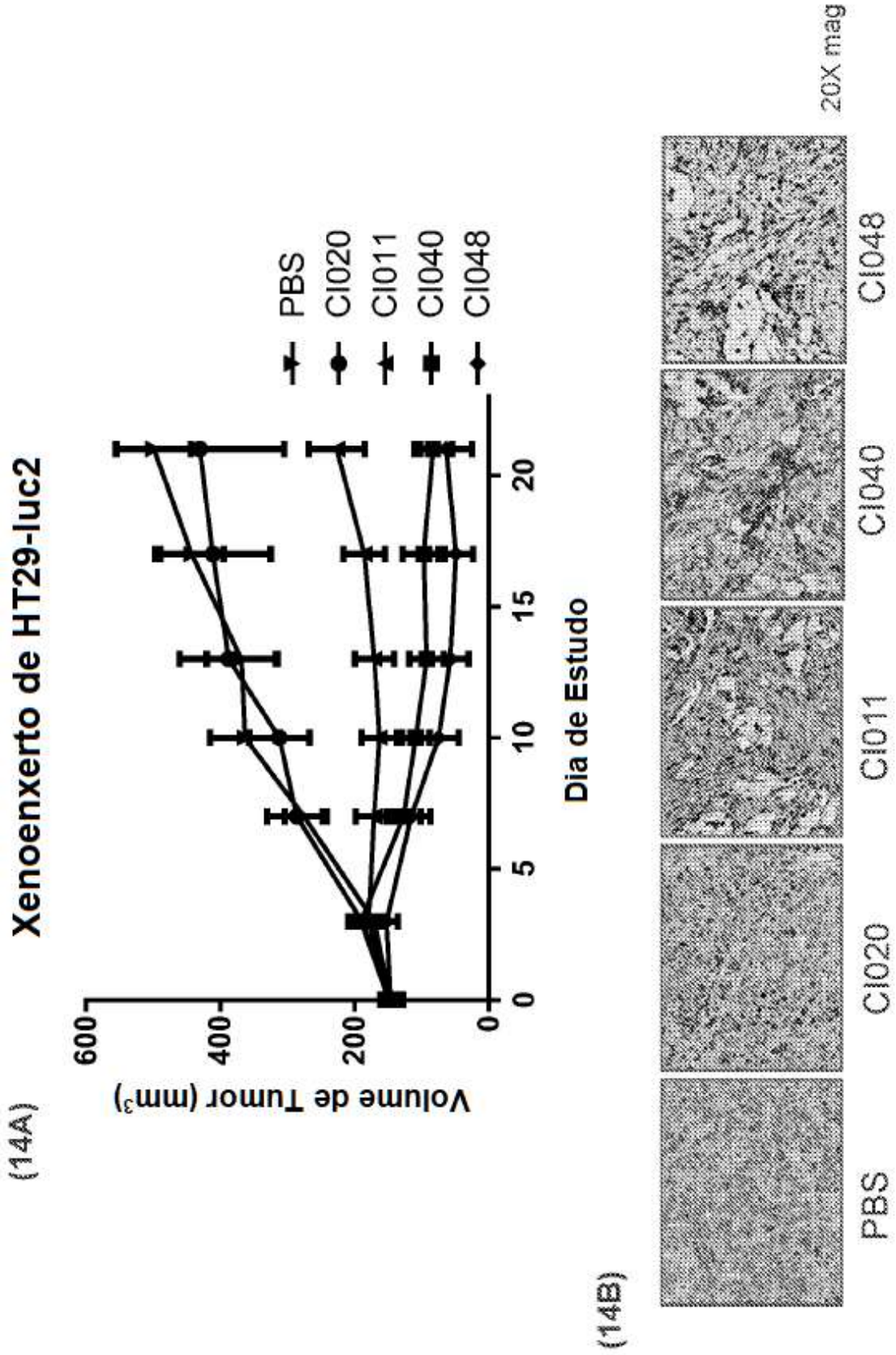


FIG. 12B

FIG. 13



FIGS. 14A-14B



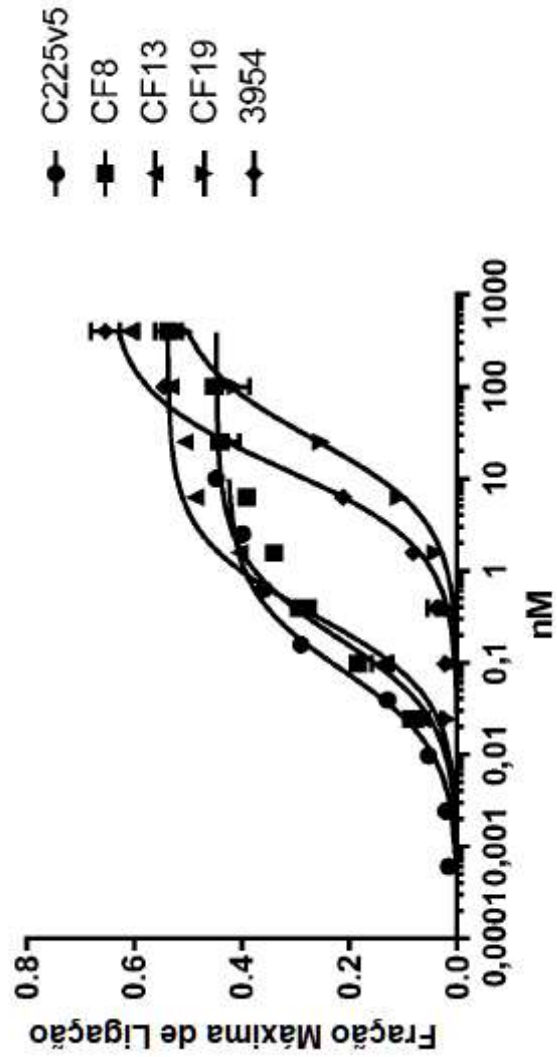
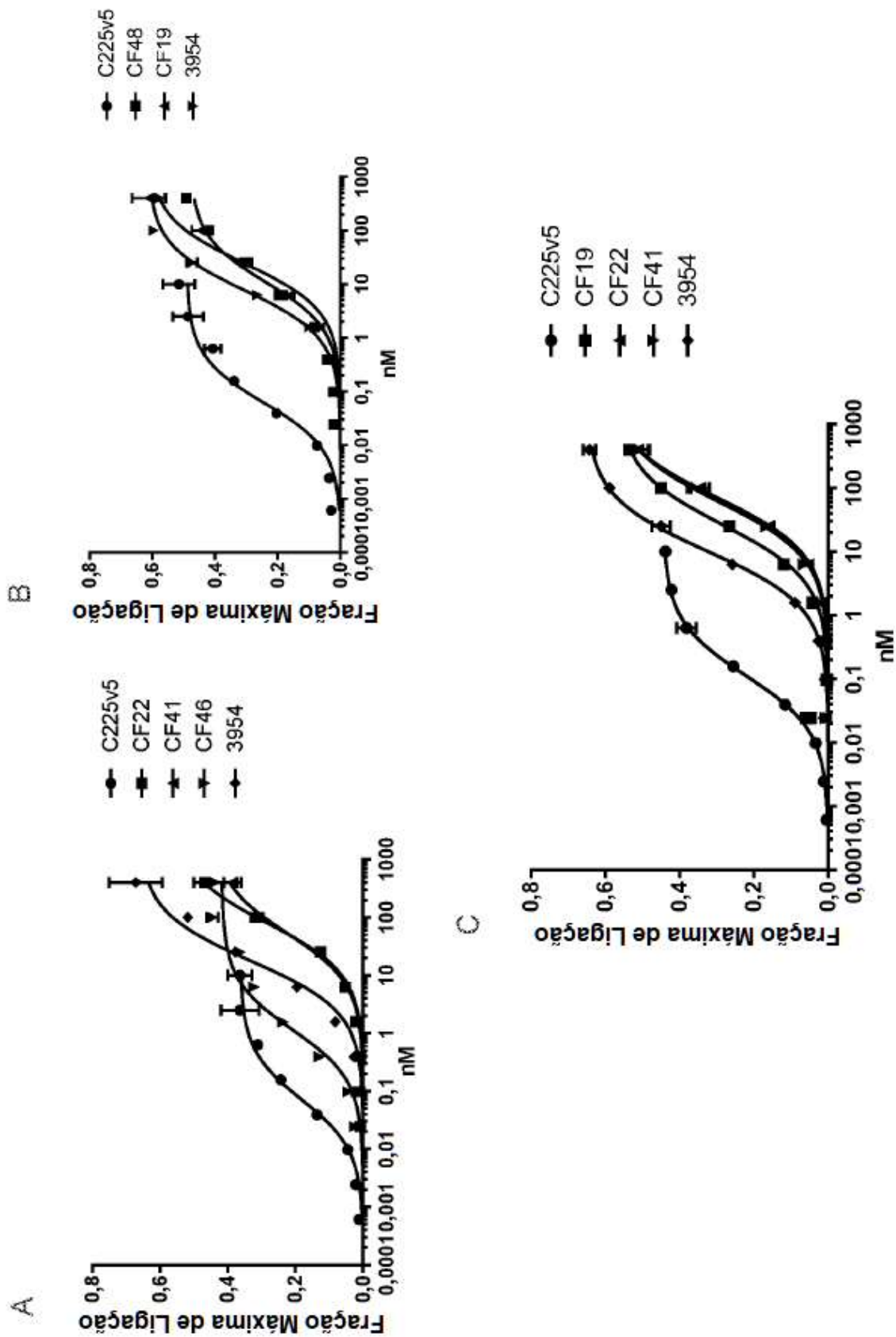
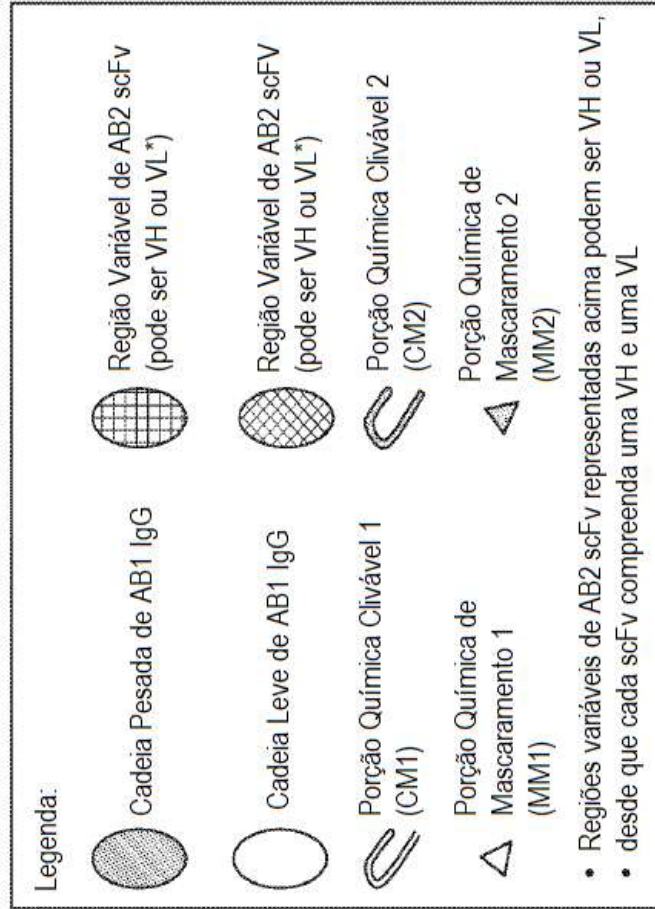


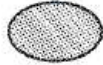







FIG. 15

FIG. 16





Legenda:

-  Cadeia Pesada de AB1 IgG
-  Cadeia Leve de AB1 IgG
-  Porção Química Clivável 1 (CM1)
-  Região Variável de AB2 scFv (pode ser VH ou VL*)
-  Região Variável de AB2 scFv (pode ser VH ou VL*)
-  Porção Química Clivável 2 (CM2)
-  Porção Química de Mascaramento 1 (MM1)
-  Porção Química de Mascaramento 2 (MM2)

- Regiões variáveis de AB2 scFv representadas acima podem ser VH ou VL,
- desde que cada scFv compreenda uma VH e uma VL

FIG. 17

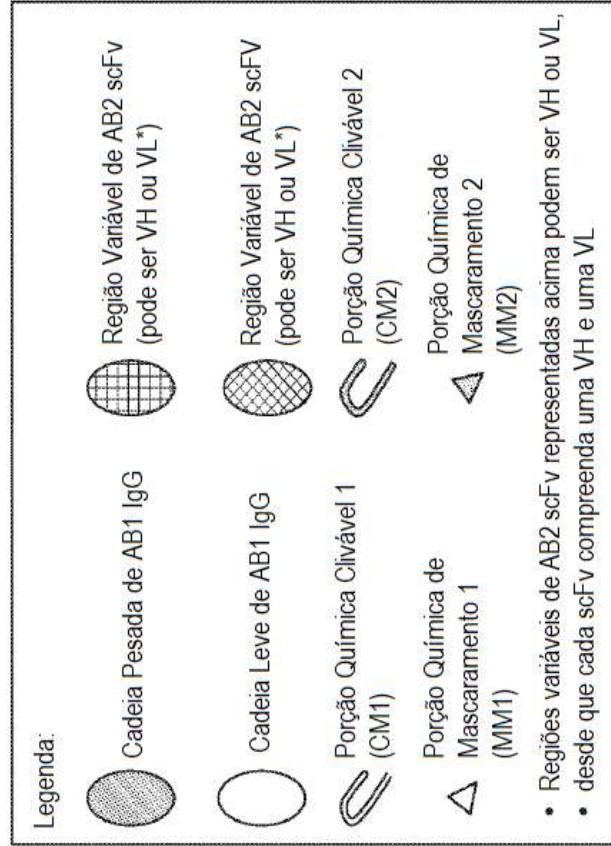
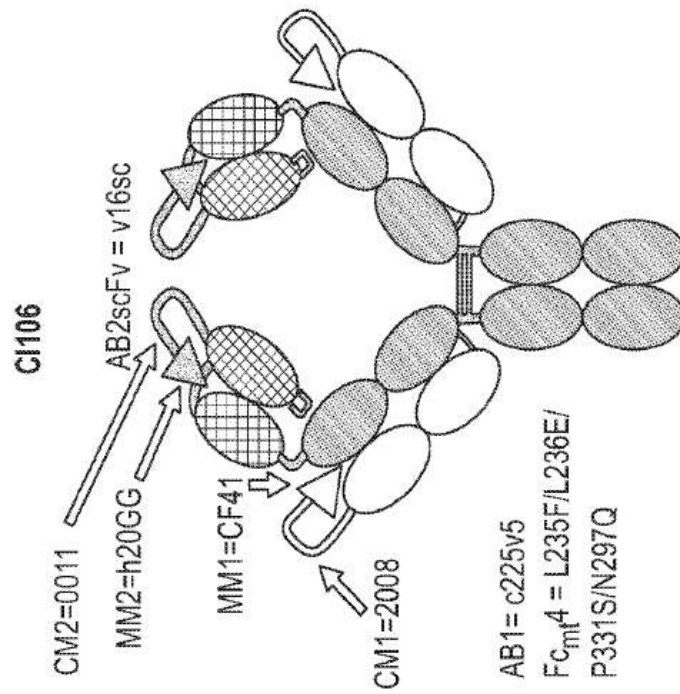


FIG. 19

FIG. 20

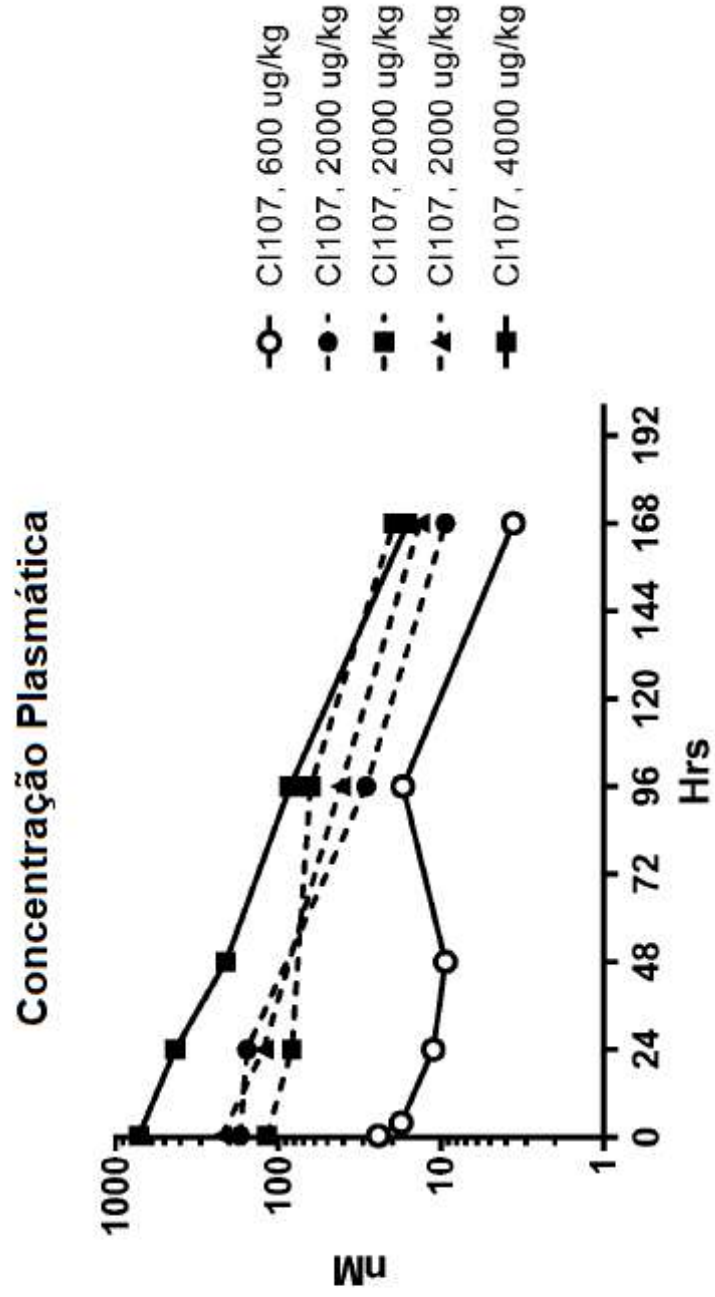
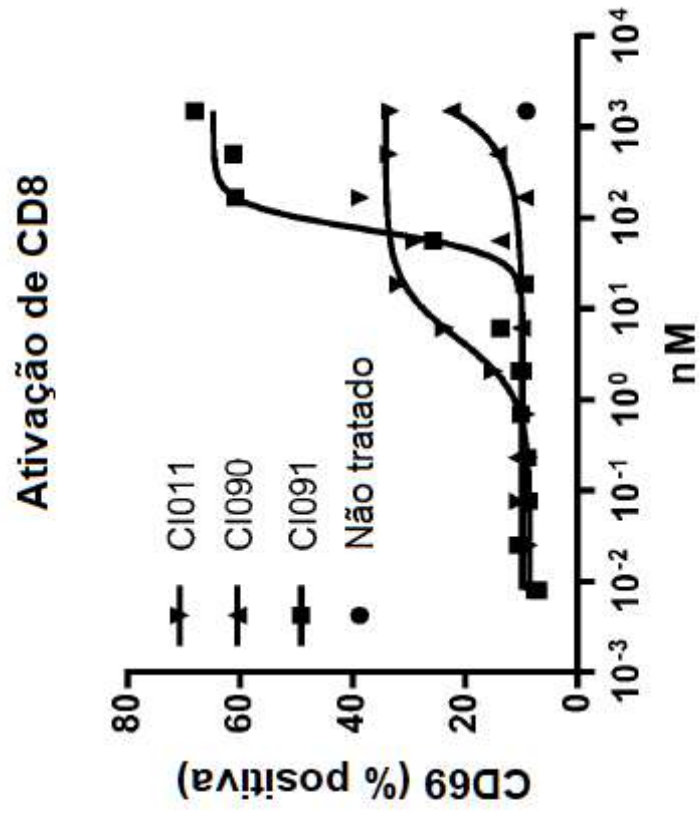


FIG. 22



Intervenção de Tumor HT-29

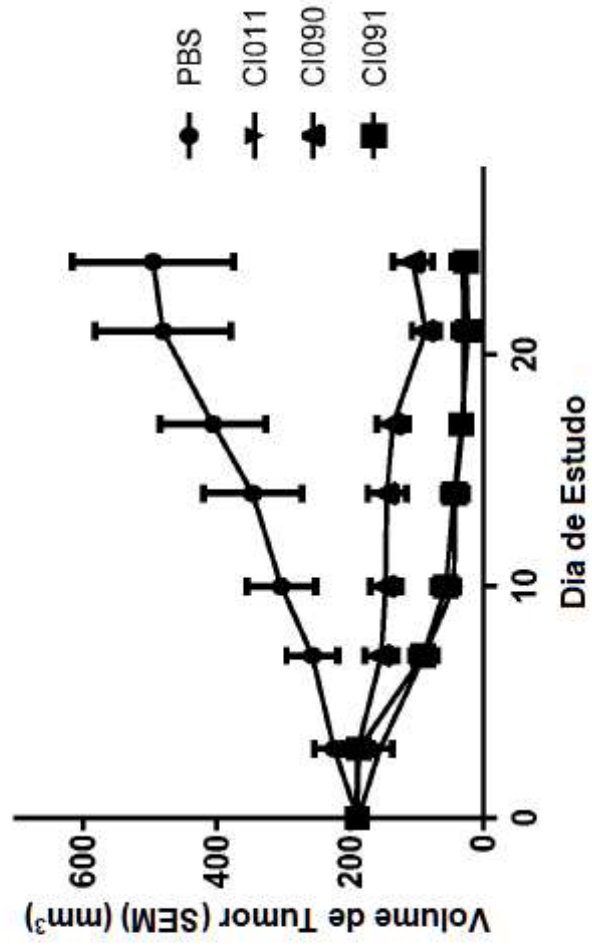
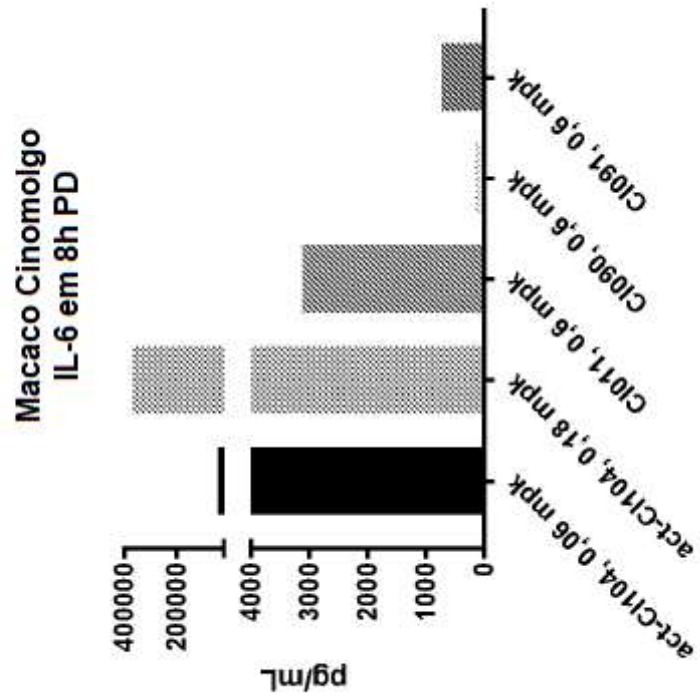


FIG. 23

FIG. 24



RESUMO

“ANTICORPOS, ANTICORPOS ATIVÁVEIS, ANTICORPOS BIESPECÍFICOS E ANTICORPOS ATIVÁVEIS BIESPECÍFICOS E MÉTODOS DE USO DOS MESMOS”

Trata-se de anticorpos, anticorpos ativáveis (AAs), anticorpos biespecíficos e anticorpos ativáveis biespecíficos (BAAs). Também são fornecidos no presente documento métodos para produzir e métodos para uso destes anticorpos, AAs, anticorpos biespecíficos e BAAs.

Este anexo apresenta o código de controle da listagem de sequências biológicas.

Código de Controle

Campo 1



Campo 2



Outras Informações:

- Nome do Arquivo: Listagem de Sequência.txt
- Data de Geração do Código: 27/04/2020
- Hora de Geração do Código: 17:16:10
- Código de Controle:
 - Campo 1: 7B5C497E4C72B2FD
 - Campo 2: 06E98D95514B525E