

REIVINDICACIONES

Habiéndose descrito la invención como antecede, se reclama como propiedad lo contenido en las siguientes reivindicaciones:

- 5 1. Una molécula de unión aislada o fragmento de unión a antígeno de la misma que se une específicamente a CD73 que comprende una V_L de anticuerpo, en donde la V_L comprende la secuencia de aminoácidos:

$$[FW_1]SGSLSNIGRNX_1VN[FW_2] \quad LX_2NX_3RX_4X_5[FW_3]$$

10 ATWDDSX₆X₇GWX₈[FW₄]

en donde $[FW_1]$, $[FW_2]$, $[FW_3]$ y $[FW_4]$ representan regiones marco de V_L , y en donde X_1 representa los restos de aminoácido Prolina (P), Ácido Glutámico (E) o Ácido Aspártico (D); X_2 representa los restos de aminoácido Asparagina (N) o Ácido Aspártico (D);

X₃ representa los restos de aminoácido glutamina (Q) o leucina (L);

X₄ representa los restos de aminoácido leucina (L) o prolina (P);

20 X₅ representa los restos de aminoácido glicina (G) o serina (S);

X₆ representa los restos de aminoácido leucina (L) o histidina (H);

X₇ representa los restos de aminoácido lisina (K),
25 prolina (P), isoleucina (I) o asparagina (N); y,

X₈ representa los restos de aminoácido leucina (L) o treonina (T).

2. La molécula de unión aislada o fragmento de unión
a antígeno de la misma de acuerdo con la reivindicación 1,
30 en donde la FW₁ comprende la SEQ ID NO: 25 o 26, la FW₂

comprende la SEQ ID NO: 27 o 28, la FW₃ comprende la SEQ ID NO: 29, y la FW₄ comprende la SEQ ID NO: 30.

3. Una molécula de unión aislada o fragmento de unión a antígeno de la misma que se une específicamente a CD73 que comprende una V_H de anticuerpo, en donde la V_H comprende la secuencia de aminoácidos:

[FW₅]SYAX₉S [FW₆]X₁₀IX₁₁GSX₁₂GX₁₃TYYADSVKG
[FW₇]LGYX₁₄X₁₅X₁₆DX₁₇ [FW₈]

en donde [FW₅], [FW₆], [FW₇] y [FW₈] representan regiones marco de V_H, y en donde

X₉ representa los restos de aminoácido metionina (M) o tirosina (Y);

X₁₀ representa los restos de aminoácido leucina (L) o alanina (A);

X₁₁ representa los restos de aminoácido triptófano (W) o serina (S);

X₁₂ representa los restos de aminoácido triptófano (W) o glicina (G);

X₁₃ representa los restos de aminoácido serina (S) o arginina (R);

X₁₄ representa los restos de aminoácido glicina (G) o serina (S);

X₁₅ representa los restos de aminoácido arginina (R) o treonina (T);

X₁₆ representa los restos de aminoácido valina (V) o isoleucina (I); y,

X₁₇ representa los restos de aminoácido tirosina (Y), lisina (K), metionina (M), leucina (L) o ácido glutámico (E).

4. La molécula de unión aislada o fragmento de unión a antígeno de la misma de acuerdo con la reivindicación 3,

en donde la FW₅ comprende la SEQ ID NO: 31, FW₆ comprende la SEQ ID NO: 32, FW₇ comprende la SEQ ID NO: 33 y la FW₈ comprende la SEQ ID NO: 34.

5 5. Una molécula de unión aislada o fragmento de unión a antígeno de la misma que se une específicamente a CD73 que comprende una V_L de anticuerpo y una V_H de anticuerpo, en donde la V_L comprende la secuencia de aminoácidos:

10 [FW₁]SGSLSNIGRN_{X1}VN[FW₂] LX₂NX₃RX₄X₅[FW₃]
 ATWDDSX₆X₇GWX₈[FW₄]

en donde $[FW_1]$, $[FW_2]$, $[FW_3]$ y $[FW_4]$ representan regiones marco de V_L , y en donde

X₁ representa los restos de aminoácido prolina (P), ácido glutámico (E) o ácido aspártico (D);

15 X₂ representa los restos de aminoácido asparagina (N)
o ácido aspártico (D);

X₃ representa los restos de aminoácido glutamina (Q) o leucina (L);

X₄ representa los restos de aminoácido leucina (L) o
20 prolina (P);

X₅ representa los restos de aminoácido glicina (G) o serina (S);

X₆ representa los restos de aminoácido leucina (L) o histidina (H);

25 X₇ representa los restos de aminoácido lisina (K),
prolina (P), isoleucina (I) o asparagina (N); y,

X₈ representa los restos de aminoácido leucina (L) o treonina (T);

y en donde la V_H comprende la secuencia de
30 aminoácidos:

[FW₅]SYAX₉S [FW₆]X₁₀IX₁₁GSX₁₂GX₁₃TYYADSVKG
[FW₇]LGYX₁₄X₁₅X₁₆DX₁₇ [FW₈]

en donde [FW₅], [FW₆], [FW₇] y [FW₈] representan
regiones marco de VH, y en donde

5 X₉ representa los restos de aminoácido metionina (M) o
tirosina (Y);

X₁₀ representa los restos de aminoácido leucina (L) o
alanina (A);

X₁₁ representa los restos de aminoácido triptófano (W)
10 o serina (S);

X₁₂ representa los restos de aminoácido triptófano (W)
o glicina (G);

X₁₃ representa los restos de aminoácido serina (S) o
arginina (R);

15 X₁₄ representa los restos de aminoácido glicina (G) o
serina (S);

X₁₅ representa los restos de aminoácido arginina (R) o
treonina (T);

X₁₆ representa los restos de aminoácido valina (V) o
20 isoleucina (I); y,

X₁₇ representa los restos de aminoácido tirosina (Y),
lisina (K), metionina (M), leucina (L) o ácido glutámico
(E).

6. La molécula de unión aislada o fragmento de unión
25 a antígeno de la misma de acuerdo con la reivindicación 5,
en donde la FW₁ comprende la SEQ ID NO: 25 o 26, la FW₂
comprende la SEQ ID NO: 27 o 28, la FW₃ comprende la SEQ ID
NO: 29, la FW₄ comprende la SEQ ID NO: 30, FW₅ comprende la
SEQ ID NO: 31, FW₆ comprende la SEQ ID NO: 32, FW₇ comprende
30 la SEQ ID NO: 33 y la FW₈ comprende la SEQ ID NO: 34.

7. La molécula de unión aislada o fragmento de unión a antígeno de la misma de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que comprende un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

5 8. Una molécula de unión aislada o fragmento de unión a antígeno de la misma que se une específicamente a CD73 que comprende una V_L de anticuerpo, en donde la V_L comprende secuencias de aminoácidos de VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 idénticas a, o idénticas a excepción de cuatro,
10 tres, dos o una sustitución de aminoácidos en una o más de las VL-CDR respecto de: SEQ ID NO: 46, 49 y 53; las SEQ ID NO: 47, 49 y 53; SEQ ID NO: 47, 49 y 54; SEQ ID NO: 46, 50 y 54; SEQ ID NO: 46, 51 y 55; SEQ ID NO: 48, 52 y 54; SEQ ID NO: 46, 49 y 56; SEQ ID NO: 47, 49 y 56; SEQ ID NO: 46, 50 y 56; SEQ ID NO: 46, 51 y 56; o SEQ ID NO: 48, 52 y 56, respectivamente.

9. Una molécula de unión aislada o fragmento de unión a antígeno de la misma que se une específicamente a CD73 que comprende una V_H de anticuerpo, en donde la V_H
20 comprende secuencias de aminoácidos de VH-CDR1, VH-CDR2 y VH-CDR3 idénticas a, o idénticas a excepción de cuatro, tres, dos o una sustitución de aminoácidos en una o más de las VH-CDR respecto de: SEQ ID NO: 35, 37 y 41; las SEQ ID NO: 36, 37 y 42; SEQ ID NO: 36, 38 y 43; SEQ ID NO: 36, 39 y 44; SEQ ID NO: 36, 40 y 44; SEQ ID NO: 35, 37 y 45; SEQ ID NO: 36, 37 y 45; SEQ ID NO: 36, 38 y 45; SEQ ID NO: 36, 39 y 45; o SEQ ID NO: 36, 40 y 45, respectivamente.

10. La molécula de unión aislada o fragmento de unión a antígeno de la misma de acuerdo con la reivindicación 8 o
30 9, que comprende un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo.

11. Un anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a CD73 que comprende una V_L y una V_H que comprenden secuencias de aminoácidos de VL-CDR1, VL-CDR2, VL-CDR3, VH-CDR1, VH-CDR2 y VH-CDR3 idénticas o idénticas a excepción de cuatro, tres, dos o una sustitución de aminoácidos en una o más CDR respecto de: SEQ ID NO: 46, 49, 53, 35, 37 y 41; las SEQ ID NO: 47, 49, 53, 35, 37 y 41; las SEQ ID NO: 47, 49, 54, 36, 37 y 42; las SEQ ID NO: 46, 50, 54, 36, 38 y 43; las SEQ ID NO: 46, 51, 55, 36, 39 y 44; las SEQ ID NO: 48, 52, 54, 36, 40 y 44; las SEQ ID NO: 46, 49, 56, 35, 37 y 41; las SEQ ID NO: 46, 49, 53, 35, 37 y 45; las SEQ ID NO: 47, 49, 56, 36, 37 y 45; las SEQ ID NO: 46, 50, 56, 36, 38 y 45; las SEQ ID NO: 46, 51, 56, 36, 39 y 45; las SEQ ID NO: 48, 52, 56, 36, 40 y 45; o SEQ ID NO: 46, 49, 56, 35, 37 y 45.

12. El anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 11, que comprende un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo.

13. Un anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende una V_L que comprende la SEQ ID NO: 68 y una V_H que comprende la SEQ ID NO: 82.

14. Un anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende una V_L que consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 68 y una V_H que consiste esencialmente en la SEQ ID NO: 82.

15. Un anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende una V_L que consiste en la SEQ ID NO: 68 y una V_H que consiste en la SEQ ID NO: 82.

16. La molécula de unión aislada o fragmento de unión a antígeno de la misma de acuerdo con la reivindicación 7,

que comprende una región constante de cadena pesada o fragmento de la misma.

17. La molécula de unión aislada o fragmento de unión a antígeno de la misma de acuerdo con la reivindicación 10,
5 que comprende una región constante de cadena pesada o fragmento de la misma.

18. El anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 11 a 15, que comprende una región
10 constante de cadena pesada o fragmento de la misma.

19. Un ácido nucleico que comprende una secuencia que codifica el anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7 y 10 a 18.

15 20. Una célula hospedadora que comprende una secuencia de ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 19.

21. Un método para fabricar el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7 y 10 a 18, que comprende (a)
20 cultivar la célula de la reivindicación 20; y (b) aislar el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo.

22. La molécula de unión aislada o fragmento de unión a antígeno de la misma de acuerdo con la reivindicación 7,
25 que es un antagonista de CD73.

23. La molécula de unión aislada o fragmento de unión a antígeno de la misma de acuerdo con la reivindicación 10, que es un antagonista de CD73.

24. El anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las
30 reivindicaciones 11 a 15, que es un antagonista de CD73.

25. La molécula de unión aislada o fragmento de unión a antígeno de la misma de acuerdo con la reivindicación 22, en donde el CD73 es CD73 humano.

5 26. La molécula de unión aislada o fragmento de unión a antígeno de la misma de acuerdo con la reivindicación 23, en donde el CD73 es CD73 humano.

27. El anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 24, en donde el CD73 es CD73 humano.

10 28. Uso del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 27 en la fabricación de un medicamento para tratar el cáncer.

15 29. El uso de acuerdo con la reivindicación 28, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer colorrectal, cáncer pancreático, cáncer de vejiga, leucemia, linfoma, glioma, glioblastoma, melanoma, cáncer de ovario, cáncer de tiroides, cáncer esofágico, cáncer de próstata y cáncer de mama.

20 30. Uso de un anticuerpo anti-CD73, o un fragmento de unión a antígeno del mismo en la fabricación de un medicamento para tratar a un sujeto identificado como un sujeto que tiene un tumor que tiene aumentada la expresión de CD73 con respecto a una referencia.

25 31. El uso de la reivindicación 30, en donde el anticuerpo anti-CD73 es MEDI9447 o hIgG1 Phen0203.

32. El uso de la reivindicación 30 o 31, en donde el sujeto se está sometiendo, se ha sometido o se someterá a una terapia anti-PD-1, anti-PD-L1 o anti-CTLA4.

30 33. El uso de la reivindicación 32, en donde la terapia anti-PD-1, anti-PD-L1 o anti-CTLA4 comprende administrar un

anticuerpo anti-PD-1, anti-PD-L1 o anti-CTLA4 o un fragmento de unión a antígeno de los mismos.

34. El uso de la reivindicación 33, en donde el anticuerpo anti-PD-1 es pembrolizumab (KEYTRUDA®,
5 lambrolizumab, MK-3475), nivolumab (OPDIVA®, BMS-936558, MDX-1106, ONO-4538), AMP-224 o un fragmento de unión a antígeno de los mismos.

35. El método de la reivindicación 33, en donde el anticuerpo anti-PD-L1 es MEDI4736, BMS-936559, MPDL3280A o
10 fragmentos de unión a antígeno de los mismos.

36. El método de la reivindicación 33, en donde el anticuerpo anti-CTLA-4 es ipilimumab, tremelimumab (ticilimumab, CP-675,206) o un fragmento de unión a antígeno de los mismos.

15 37. Una formulación farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-CD73 o fragmento de unión a antígeno del mismo y un anticuerpo anti-PD-L1 o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

38. La formulación farmacéutica de la reivindicación
20 37, en donde el anticuerpo anti-CD73 es MEDI9447, hIgG1 Phen0203 o un fragmento de unión a antígeno de los mismos.

39. La formulación farmacéutica de la reivindicación 37 o 38, en donde el anticuerpo anti-PD-L1 es MEDI4736, BMS-936559, MPDL3280A o un fragmento de unión a antígeno de
25 los mismos.

40. Una formulación farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-CD73 o fragmento de unión a antígeno del mismo y un anticuerpo anti-CTLA4 o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

41. La formulación farmacéutica de la reivindicación 40, en donde el anticuerpo anti-CD73 es MEDI9447, hIgG1 Phen0203 o un fragmento de unión a antígeno de los mismos.

5 42. La formulación farmacéutica de la reivindicación 40 o 41, en donde el anticuerpo anti-CTLA4 es ipilimumab o tremelimumab (ticilimumab, CP-675,206) o un fragmento de unión a antígeno de los mismos.

43. Una molécula de unión aislada o fragmento de unión a antígeno de la misma que se une específicamente a
10 CD73 que tiene una V_L de anticuerpo y una V_H de anticuerpo, que se une específicamente a un epítipo de una proteína CD73 que comprende uno o más aminoácidos que corresponden a Val144, Lys180 y Asn185.

44. La molécula de unión aislada o fragmento de unión
15 a antígeno de la misma, de la reivindicación 43, que comprende además uno o más aminoácidos correspondientes a Tyr135, Lys136 y Asn187.

45. La molécula de unión aislada o fragmento de unión a antígeno de la misma, de la reivindicación 43 o 44, que
20 comprende los aminoácidos correspondientes a Tyr135, Lys136 y Asn187.

46. La molécula de unión aislada o fragmento de unión a antígeno de la misma, de la reivindicación 43 o 44, que
comprende los aminoácidos correspondientes a Tyr135,
25 Lys136, Asn185, Tyr135, Lys136 y Asn187.

47. La molécula de unión aislada o fragmento de unión a antígeno de la misma, de la reivindicación 43 o 44, que se une a un epítipo dentro de una o más de las siguientes regiones de una proteína CD73: Tyr132-Val144 y/o Lys180-
30 Asn187.

48. La molécula de unión aislada o fragmento de unión a antígeno de la misma, de la reivindicación 43 o 44, que comprende las secuencias de aminoácidos de Tyr132-Val144 y/o Lys180-Asn187.

5

10

15

20

25

30