

ANTICUERPOS ANTI-CD73 Y MÉTODOS DE USO DE LOS MISMOS

SOLICITUDES RELACIONADAS

- [0001] Esta solicitud reivindica prioridad en la Solicitud de Patente Provisional de EE. UU. con Número de Serie 62/640,850, presentada el 9 de marzo de 2018, cuya descripción completa se incorpora aquí como referencia.

REFERENCIA A LISTADO DE SECUENCIAS PRESENTADO ELECTRÓNICAMENTE

- [0002] El contenido del listado de secuencias presentado electrónicamente en un archivo de texto ASCII (Nombre: AGBW-125PC_SeqList_ST25.txt) se incorpora aquí como referencia en su totalidad.

1. CAMPO

- [0003] La presente divulgación se refiere a anticuerpos que se unen específicamente a CD73 (*por ejemplo*, CD73 humana) y métodos para usar los mismos.

15 2. ANTECEDENTES

- [0004] La CD73, también conocida como ecto-5'-nucleotidasa, ecto-5'-NT, 5'-NT y *NT5E*, es una enzima de superficie celular unida a glicosilfosfatidilinositol (GPI). La actividad enzimática de CD73 cataliza la hidrólisis del monofosfato de adenosina extracelular (AMP, *por sus siglas en inglés*) en adenosina. Esta actividad, junto con la actividad de CD39 para catalizar la hidrólisis de trifosfato de adenosina extracelular (ATP, *por sus siglas en inglés*) en AMP, constituye un importante sistema generador de adenosina en el espacio extracelular. La adenosina es un ligando de varios receptores acoplados a proteína G (GPCRs, *por sus siglas en inglés*) y está implicada en el escape inmunológico, la angiogénesis y la motilidad tumoral. La CD73 se expresa ampliamente en muchos tejidos y se ha encontrado que está regulado positivamente en tumores primarios y metastásicos en etapa tardía. Los estudios en modelos animales han demostrado que el bloqueo de la actividad de CD73 utilizando un anticuerpo anti-CD73 suprime el crecimiento tumoral y prolonga la supervivencia al promover la inmunidad adaptativa antitumoral (Forte *et al.* (2012) J Immunol. 189 (5): 2226-33).

- [0005] El factor de crecimiento transformante- β (TGF β , *por sus siglas en inglés*) es una citocina pleiotrópica que se expresa a niveles elevados en tumores primarios y metastásicos en etapa tardía y está asociada con proliferación, invasión, metástasis y angiogénesis de células

tumorales. También se ha demostrado que TGF β promueve la expansión de poblaciones inmunes inmunosupresoras, como las células T reguladoras (Tregs, *por sus siglas en inglés*) y las células supresoras derivadas de mieloides (MDSC, *por sus siglas en inglés*). Véase Wang et al. (2017) Front Immunol. 8: 1934.

- 5 **[0006]** Dado el papel aparente de CD73 y TGF β humanos en la modulación de las respuestas inmunes a los tumores, los agentes terapéuticos diseñados para antagonizar la actividad de CD73, o tanto la actividad de CD73 como la señalización de TGF β , son muy prometedores para el tratamiento del cáncer.

3. **DESCRIPCIÓN GENERAL**

- 10 **[0007]** La presente divulgación proporciona anticuerpos que se unen específicamente a CD73 (*por ejemplo*, CD73 humana) y antagonizan la función de CD73, *por ejemplo*, la actividad enzimática para promover la conversión de AMP en adenosina. También se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden estos anticuerpos, ácidos nucleicos que codifican estos anticuerpos, vectores de expresión y células huésped para
15 producir estos anticuerpos, y métodos para tratar a un sujeto usando estos anticuerpos. Los anticuerpos descritos en el presente documento son particularmente útiles para estimular las respuestas inmunitarias a un antígeno tumoral y, por lo tanto, son útiles para tratar el cáncer en un sujeto.

- 20 **[0008]** En consecuencia, en un aspecto, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 humana, el anticuerpo que comprende una región variable de cadena pesada que comprende regiones determinantes de complementariedad (CDR, *por sus siglas en inglés*) CDRH1, CDRH2 y CDRH3, y una región variable de cadena ligera que comprende las regiones determinantes de complementariedad CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en donde:

- 25 (a) CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de X₁X₂WX₃X₄ (SEQ ID NO.: 13), donde

X₁ es S o N;

X₂ es S o Y;

X₃ es I o M; y

- 30 X₄ es N o H;

- (b) CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de X₁IYPRX₂X₃DTNYX₄X₅KFKX₆ (SEQ ID NO.: 14), donde

X₁ es R o T;

X₂ es N, A o S;

X₃ es G o S;

X₄ es N, A o S;

X₅ es G o Q; y

5 X₆ es D o G;

(c) CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de LLDYSMDY (SEQ ID NO.: 7);

(d) CDRL1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQDISX₁X₂LN (SEQ ID NO.: 16), donde

X₁ es N o I; y

10 X₂ es Y o S;

(e) CDRL2 comprende la secuencia de aminoácidos de YTSRLHS (SEQ ID NO.: 10); y/o

(f) (f) CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQGNTLPXT (SEQ ID NO.: 17), en donde:

X es L o W.

15 **[0009]** En determinadas realizaciones, CDRH1 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 1 y 2. En determinadas realizaciones, CDRH2 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 3-6. En determinadas realizaciones, CDRL1 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 8 y 9. En determinadas realizaciones, 20 CDRL3 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 11 y 12.

[0010] En determinadas realizaciones,

(a) CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de SSWIN (SEQ ID NO.: 2);

(b) CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de RIYPRX₁GDTNYX₂GKFK_D (SEQ 25 ID NO.: 15), donde

X₁ es N, A o S; y

X₂ es N, A o S;

(c) CDRL1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQDISX₁X₂LN (SEQ ID NO.: 16), donde

30 X₁ es N o I; y

X₂ es Y o S; y/o

(d) CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQGNTLPLT (SEQ ID NO.: 12).

[0011] En ciertas realizaciones, CDRH2 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 4-6. En determinadas realizaciones,

CDRL1 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 8 y 9.

[0012] En determinadas realizaciones, CDRH1, CDRH2 y CDRH3 comprenden las secuencias de aminoácidos de CDRH1, CDRH2 y CDRH3, respectivamente, establecidas en las SEQ ID NO.: 2, 4 y 7; 2, 5 y 7; 1, 3 y 7; o 2, 6 y 7. En determinadas realizaciones, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 comprenden las secuencias de aminoácidos de CDRL1, CDRL2 y CDRL3, respectivamente, establecidas en las SEQ ID NO.: 8, 10 y 12; 9, 10 y 12; o 8, 10 y 11. En determinadas realizaciones, CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 comprenden las secuencias de aminoácidos de CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3, respectivamente, establecidas en las SEQ ID NO.: 2, 4, 7, 8, 10, y 12; 2, 5, 7, 8, 10, y 12; 1, 3, 7, 8, 10, y 11; 2, 4, 7, 8, 10, y 11; 2, 4, 7, 9, 10, y 12; 2, 6, 7, 8, 10, y 12; 2, 5, 7, 9, 10, y 12; o 2, 6, 7, 9, 10, y 12. En ciertas realizaciones, CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 comprenden las secuencias de aminoácidos de CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3, respectivamente, expuesto en las SEQ ID NO.: 2, 4, 7, 8, 10, y 12; o 2, 5, 7, 8, 10, y 12.

[0013] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 humana, el anticuerpo que comprende una región variable de cadena pesada que comprende CDRH1, CDRH2 y CDRH3, y una región variable de cadena ligera que comprende regiones determinantes de complementariedad CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en donde CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de LLDYSMDY (SEQ ID NO.: 7); y/o CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQGNTLPLT (SEQ ID NO.: 12) o QQGNTLPWT (SEQ ID NO.: 11).

[0014] En ciertas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 31. En ciertas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 75%, 80 %, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 19-21 y 23-30. En determinadas realizaciones, la región variable de la cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO.: 19-21 y 23-30. En determinadas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97 %, 98%, 99% o 100% idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO.: 23-30. En determinadas realizaciones, la región variable de la cadena pesada comprende

una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO.: 23-30. En ciertas realizaciones, la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 24 o 27. En ciertas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal humana como se establece en SEQ ID NO.: 22.

[0015] En ciertas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 41 o 42. En ciertas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO.: 33-35 y 37-40. En determinadas realizaciones, la región variable de la cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO.: 33-35 y 37-40. En ciertas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97 %, 98%, 99% o 100% idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 37-40. En determinadas realizaciones, la región variable de la cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO.: 37-40. En ciertas realizaciones, la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 37. En ciertas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de la línea germinal humana como se establece en SEQ ID. NO: 36.

[0016] En ciertas realizaciones, la región variable de la cadena pesada y la región variable de la cadena ligera, respectivamente, comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en las SEQ ID NO.: 24 y 37; 27 y 37; 19 y 33; 20 y 34; 21 y 35; 23 y 37; 23 y 38; 24 y 38; 25 y 37; 26 y 37; 28 y 37; 25 y 38; 26 y 38; 27 y 38; 28 y 38; 29 y 37; 30 y 37; 23 y 39; o 23 y 40. En ciertas realizaciones, la región variable de la cadena pesada y la región variable de la cadena ligera, respectivamente, comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en las SEQ ID NO.: 24 y 37; o 27 y 37.

[0017] En ciertas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% idéntica a SEQ ID NO.: 27, y/o una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 75%,

80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95 %, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% idéntica a las SEQ ID NO.: 37.

[0018] En ciertas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%,
5 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% idéntica a SEQ ID NO.: 85, y/o una cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92% , 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% idéntica a las SEQ ID NO.: 97.

[0019] En ciertas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%,
10 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% idéntica a SEQ ID NO.: 115, y/o una cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92% , 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% idéntica a las SEQ ID NO.: 97.

[0020] En determinadas realizaciones, el anticuerpo comprende una región constante de cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁, e IgA₂
15 humanas. En determinadas realizaciones, la región constante de la cadena pesada es IgG₁. En determinadas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de IgG₁ comprende una mutación N297A, numerada según el sistema de numeración de la UE. En ciertas realizaciones, la región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 50, 49, 46, 45, 55 o 56. En ciertas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena pesada que
20 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre grupo que consiste en SEQ ID NO.: 63-88.

[0021] En determinadas realizaciones, el anticuerpo comprende una región constante de cadena ligera seleccionada del grupo que consiste en Igκ e Igλ humanas. En determinadas realizaciones, la región constante de la cadena ligera es Igκ. En determinadas realizaciones, la
25 región constante de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 93 u 89. En determinadas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 92 y 94-98.

[0022] En determinadas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena pesada y una
30 cadena ligera que comprende las secuencias de aminoácidos indicadas en cualquier fila de la Tabla 4, preferiblemente la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO.: 79 y 97; 85 y 97; 77 y 97; 80 y 97; 86 y 97; 64 y 92; 70 y 96; o 78 y 97, respectivamente.

[0023] En ciertas realizaciones que enumeran cualquiera de las SEQ ID NO.: 19, 20 y 65-68, la X en cualquiera de las SEQ ID NO.: 19, 20 y 65-68 es glutamina. En ciertas realizaciones que enumeran cualquiera de las SEQ ID NO.: 21, 23-30, 63, 64, 69-88, la X en cualquiera de las SEQ ID NO.: 21, 23-30, 63, 64, 69-88 es glutamato. En determinadas realizaciones que
5 enumeran cualquiera de las SEQ ID NO.: 19-21, 23-30 y 63-88, la X en cualquiera de las SEQ ID NO.: 19-21, 23-30 y 63-88 es piroglutamato.

[0024] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une al mismo epítipo de CD73 humana que el anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones anteriores.

[0025] En determinadas realizaciones de cualquiera de los aspectos anteriores, el anticuerpo es un anticuerpo humanizado. En determinadas realizaciones, el anticuerpo es antagonista de la CD73 humana. En determinadas realizaciones, el anticuerpo desactiva, reduce o inhibe una actividad de la CD73 humana. En determinadas realizaciones, el anticuerpo atenúa la capacidad de la CD73 humana para convertir el monofosfato de adenosina en adenosina. En
10 determinadas realizaciones, el anticuerpo se internaliza tras la unión a células que expresan CD73 humana.

[0026] En determinadas realizaciones, el anticuerpo aislado comprende además una fracción de unión a TGF β . En determinadas realizaciones, la fracción de unión a TGF β está unido a la región variable de la cadena pesada. En determinadas realizaciones, la fracción de
20 unión a TGF β se une a la región variable de la cadena pesada mediante un enlazador peptídico. En determinadas realizaciones, el anticuerpo aislado comprende además una fracción de unión a TGF β unido a la región constante de la cadena pesada. En determinadas realizaciones, la fracción de unión a TGF β está unido al residuo C-terminal de la región constante de la cadena pesada. En determinadas realizaciones, el residuo N-terminal de la fracción de unión a TGF β
25 se une al residuo C-terminal de la región constante de la cadena pesada mediante un enlazador peptídico. En determinadas realizaciones, el enlazador peptídico comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO.: 103-108.

[0027] En determinadas realizaciones, la fracción de unión a TGF β se une específicamente a TGF β humano. En ciertas realizaciones, la fracción de unión a TGF β comprende un dominio
30 extracelular de un receptor de TGF β humano. En determinadas realizaciones, el receptor de TGF β humano se selecciona del grupo que consiste en TGF β R1, TGF β R2 y TGF β R3 humanos. En determinadas realizaciones, el receptor de TGF β humano es TGF β R2 humano. En ciertas realizaciones, la fracción de unión a TGF β comprende una secuencia de aminoácidos al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a una

secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 109-112. En ciertas realizaciones, la fracción de unión de TGF β consiste en una secuencia de aminoácidos al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 109-112. En ciertas

5 realizaciones, la fracción de unión a TGF β comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 109-112, preferiblemente SEQ ID NO.: 111. En ciertas realizaciones, la fracción de unión a TGF β consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 109-112, preferiblemente SEQ ID NO.: 111.

10 **[0028]** En determinadas realizaciones, el anticuerpo aislado comprende un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 113-121, preferiblemente SEQ ID NO.: 114 o 115. En determinadas realizaciones, el anticuerpo aislado comprende una polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 113-121 y un polipéptido que comprende

15 la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 92 o 97. En ciertas realizaciones, el anticuerpo aislado comprende dos polipéptidos que comprenden cada uno una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 113-121 y dos polipéptidos que comprenden cada uno la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 92 o 97. En ciertas realizaciones, el anticuerpo aislado comprende dos polipéptidos que comprenden cada uno la

20 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 115 y dos polipéptidos que comprenden cada uno la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 97.

[0029] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 humana, comprendiendo el anticuerpo una fracción de unión a TGF β . En determinadas realizaciones, el anticuerpo es antagonista de la CD73 humana. En

25 determinadas realizaciones, el anticuerpo desactiva, reduce o inhibe una actividad de la CD73 humana. En determinadas realizaciones, el anticuerpo atenúa la capacidad de la CD73 humana para convertir el monofosfato de adenosina en adenosina. En determinadas realizaciones, el anticuerpo, cuando se une a TGF β , es antagonista de la CD73 humana.

[0030] En determinadas realizaciones, la fracción de unión a TGF β se une específicamente

30 a TGF β humano. En ciertas realizaciones, la fracción de unión a TGF β comprende un dominio extracelular de un receptor de TGF β humano. En determinadas realizaciones, el receptor de TGF β humano se selecciona del grupo que consiste en TGF β R1, TGF β R2 y TGF β R3 humanos. En determinadas realizaciones, el receptor de TGF β humano es TGF β R2 humano. En ciertas realizaciones, la fracción de unión de TGF β comprende una secuencia de aminoácidos al menos

75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98 %, o 99% idéntica a una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 109-112. En ciertas realizaciones, la fracción de unión de TGF β consiste en una secuencia de aminoácidos al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a una

5 secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 109-112. En ciertas realizaciones, la fracción de unión a TGF β comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 109-112, preferiblemente SEQ ID NO.: 111. En ciertas realizaciones, la fracción de unión a TGF β consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 109-112, preferiblemente

10 SEQ ID NO.: 111.

[0031] En determinadas realizaciones, el anticuerpo aislado comprende además una fracción de unión a VEGF. En ciertas realizaciones, la fracción de unión a VEGF se une a la región variable de la cadena pesada. En ciertas realizaciones, la fracción de unión a VEGF se une a la región variable de la cadena pesada mediante un enlazador peptídico. En determinadas

15 realizaciones, el anticuerpo aislado comprende además una fracción de unión a VEGF unida a la región constante de la cadena pesada. En determinadas realizaciones, la fracción de unión a VEGF se une al residuo C-terminal de la región constante de la cadena pesada. En determinadas realizaciones, el residuo N-terminal de la fracción de unión a VEGF se une al residuo C-terminal de la región constante de la cadena pesada mediante un enlazador peptídico. En

20 determinadas realizaciones, el enlazador peptídico comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO.: 103-108.

[0032] En ciertas realizaciones, la fracción de unión a VEGF se une específicamente a VEGF humano. En determinadas realizaciones, la fracción de unión a VEGF comprende un dominio extracelular de un receptor de VEGF humano. En determinadas realizaciones, el

25 receptor de VEGF humano se selecciona del grupo que consiste en VEGFR1, VEGFR2 y VEGFR3 humanos. En determinadas realizaciones, el receptor de VEGF humano es VEGFR1 humano. En determinadas realizaciones, la fracción de unión a VEGF comprende una secuencia de aminoácidos al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98 %, o 99% idéntica a la secuencia establecida en SEQ ID NO.: 122. En ciertas

30 realizaciones, la fracción de unión a VEGF consiste en una secuencia de aminoácidos al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia expuesta en SEQ ID NO.: 122. En determinadas realizaciones, la fracción de unión a VEGF comprende la secuencia expuesta en SEQ ID NO.: 122. En ciertas realizaciones, la fracción de unión a VEGF consiste en la secuencia establecida en SEQ ID NO.: 122.

[0033] En determinadas realizaciones, el anticuerpo aislado comprende un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO.: 123-127. En determinadas realizaciones, el anticuerpo comprende un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 123-127 y un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 92, 128 y 97. En determinadas realizaciones, el anticuerpo comprende dos polipéptidos que comprenden una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 123-127 y dos polipéptidos que comprenden una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 92, 128 y 97.

[0034] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 humana, comprendiendo el anticuerpo una fracción de unión a VEGF. En determinadas realizaciones, el anticuerpo es antagonista de la CD73 humana. En determinadas realizaciones, el anticuerpo desactiva, reduce o inhibe una actividad de la CD73 humana. En determinadas realizaciones, el anticuerpo atenúa la capacidad de la CD73 humana para convertir el monofosfato de adenosina en adenosina. En determinadas realizaciones, el anticuerpo, cuando se une a VEGF, es antagonista de la CD73 humana.

[0035] En determinadas realizaciones, la fracción de unión a VEGF se une específicamente a VEGF humano. En determinadas realizaciones, la fracción de unión a VEGF comprende un dominio extracelular de un receptor de VEGF humano. En determinadas realizaciones, el receptor de VEGF humano se selecciona del grupo que consiste en VEGFR1, VEGFR2 y VEGFR3 humanos. En determinadas realizaciones, el receptor de VEGF humano es VEGFR1 humano. En determinadas realizaciones, la fracción de unión a VEGF comprende una secuencia de aminoácidos al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98 %, o 99% idéntica a la secuencia establecida en SEQ ID NO.: 122. En ciertas realizaciones, la fracción de unión a VEGF consiste en una secuencia de aminoácidos al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia establecida en SEQ ID NO.: 122. En ciertas realizaciones, la fracción de unión a VEGF comprende el aminoácido secuencia como se expone en SEQ ID NO.: 122. En ciertas realizaciones, la fracción de unión a VEGF consiste en la secuencia de aminoácidos como se indica en SEQ ID NO.: 122.

[0036] En determinadas realizaciones de cualquiera de los aspectos anteriores, el anticuerpo comprende además un agente citotóxico conjugado, un agente citostático, una toxina, un radionúclido o un marcador detectable.

[0037] En ciertas realizaciones de cualquiera de los aspectos anteriores, el anticuerpo se une a un epítipo ubicado dentro de una región de CD73 humana, la secuencia de aminoácidos de la región que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 90 y/o 91.

5 [0038] En determinadas realizaciones, el anticuerpo se une a al menos un residuo en la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO.: 90 y/o 91.

[0039] En determinadas realizaciones, el anticuerpo se une a uno o más residuos de aminoácidos de CD73 humana seleccionados del grupo que consiste en Y158, Y161, P165 o D168, numerados según la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 99.

10 [0040] En ciertas realizaciones, la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 133 se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, se reduce por lo menos 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces o 10 veces) en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

15 [0041] En determinadas realizaciones, la unión máxima del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 133 se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, se reduce por lo menos 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% o 90%) con respecto a la unión máxima del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

20 [0042] En ciertas realizaciones, la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 134 se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, se reduce por lo menos 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces o 10 veces) en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

25 [0043] En determinadas realizaciones, la unión máxima del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 134 se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, se reduce por lo menos 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% o 90%) con respecto a la unión máxima del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

30 [0044] En determinadas realizaciones, el anticuerpo se une al residuo de aminoácido Y158 de la CD73 humana, numerado según la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO.: 99.

[0045] En determinadas realizaciones, la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 59 se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, se reduce por lo menos 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces o 10

veces) en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

[0046] En determinadas realizaciones, el anticuerpo se une al residuo de aminoácido Y161 de CD73 humana, numerado según la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 99.

5 **[0047]** En ciertas realizaciones, la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 60 se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, se reduce por lo menos 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces o 10 veces) en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

10 **[0048]** En determinadas realizaciones, la unión máxima del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 60 se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, se reduce por lo menos 30%, 40%, 50%, 60%, 70 %, 80% o 90%) con respecto a la unión máxima del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

15 **[0049]** En determinadas realizaciones, el anticuerpo se une al residuo de aminoácido P165 de CD73 humana, numerado según la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 99.

[0050] En determinadas realizaciones, la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 139 se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, se reduce por lo menos 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces o 10
20 veces) en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

[0051] En determinadas realizaciones, el anticuerpo se une al residuo de aminoácido D168 de CD73 humana, numerado según la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 99.

[0052] En ciertas realizaciones, la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que
25 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 140 se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, se reduce por lo menos 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces o 10 veces) en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

[0053] En determinadas realizaciones, la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína
30 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 135 se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, se reduce por lo menos 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces o 10 veces) en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

- 5 **[0054]** En determinadas realizaciones, la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 136 se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, se reduce por lo menos 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces o 10 veces) en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.
- 10 **[0055]** En ciertas realizaciones, la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 142 se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, se reduce por lo menos 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces o 10 veces) en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141, y donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO.: 137 no se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, no se reduce más de 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces o 10 veces) en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.
- 15 **[0056]** En ciertas realizaciones, la unión máxima del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 142 se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, se reduce por lo menos 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% o 90%) con respecto a la unión máxima del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141, y donde la unión máxima del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 137 no se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, no se reduce en más del 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% o 90%) en relación con la unión máxima del anticuerpo por una proteína que comprende el amino secuencia de ácido de SEQ ID NO.: 141.
- 20 **[0057]** En determinadas realizaciones, la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 142 se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, se reduce por lo menos 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces o 10 veces) en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141, y donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO.: 138 no se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, no se reduce más de 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces o 10 veces) en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.
- 30 **[0058]** En determinadas realizaciones, la unión máxima del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 142 se reduce sustancialmente

(*por ejemplo*, se reduce por lo menos 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% o 90%) con respecto a la unión máxima del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141, y donde la unión máxima del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 138 no se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, no se reduce en más del 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% o 90%) en relación con la unión máxima del anticuerpo por una proteína que comprende el amino secuencia de ácido de SEQ ID NO.: 141.

[0059] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 humana, en donde el anticuerpo se une a un epítipo ubicado dentro de una región de CD73 humana, la secuencia de aminoácidos de la región que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 90 y/o 91.

[0060] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 humana, en donde el anticuerpo se une a al menos un residuo en la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO.: 90 y/o 91.

[0061] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 humana, en donde el anticuerpo se une a uno o más residuos de aminoácidos de CD73 humana seleccionados del grupo que consiste en Y158, Y161, P165 o D168, numerados según la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 99.

[0062] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 humana, en donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 133 se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, se reduce por lo menos 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces o 10 veces) en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 humana, en donde la unión máxima del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 133 se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, se reduce por lo menos 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% o 90%) con respecto a la unión máxima del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

[0063] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 humana, en donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 134 se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, se reduce por lo menos 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8

veces, 9 veces o 10 veces) en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

5 [0064] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 humana, en donde la unión máxima del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 134 se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, se reduce por lo menos 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% o 90%) con respecto a la unión máxima del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

10 [0065] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 humana, en donde el anticuerpo se une al residuo de aminoácido Y158 de CD73 humana, numerado según la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 99.

[0066] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 humana, en donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 59 se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, se reduce por lo menos 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces o 10 veces) en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

[0067] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 humana, en donde el anticuerpo se une al residuo de aminoácido Y161 de CD73 humana, numerado según la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 99.

[0068] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 humana, en donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 60 se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, se reduce por lo menos 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces o 10 veces) en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

[0069] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 humana, en donde la unión máxima del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 60 se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, se reduce por lo menos 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% o 90%) con respecto a la unión máxima del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

[0070] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 humana, en donde el anticuerpo se une al residuo de aminoácido P165 de CD73 humana, numerado según la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 99.

5 **[0071]** En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 humana, en donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 139 se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, se reduce por lo menos 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces o 10 veces) en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

10 **[0072]** En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 humana, en donde el anticuerpo se une al residuo de aminoácido D168 de CD73 humana, numerado según la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 99.

[0073] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 humana, en donde la afinidad de unión del anticuerpo por una
15 proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 140 se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, se reduce por lo menos 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces o 10 veces) en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

[0074] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se
20 une específicamente a CD73 humana, en donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 135 se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, se reduce por lo menos 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces o 10 veces) en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

25 **[0075]** En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 humana, en donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 136 se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, se reduce por lo menos 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces o 10 veces) en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína
30 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

[0076] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 humana, en donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 142 se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, se reduce por lo menos 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8

veces, 9 veces o 10 veces) en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141, y donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 137 no se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, no se reduce en más de 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces o 10 veces) en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

[0077] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 humana, en donde la unión máxima del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 142 se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, se reduce por lo menos 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% o 90%) en relación con la unión máxima del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141, y donde la máxima la unión del anticuerpo a una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 137 no se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, no se reduce en más del 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% o 90%) en relación con la unión máxima del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

[0078] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 humana, en donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 142 se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, se reduce por lo menos 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces o 10 veces) en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141, y donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 138 no se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, no se reduce más de 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, o 10 veces) en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

[0079] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 humana, en donde la unión máxima del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 142 se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, se reduce por lo menos 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% o 90%) en relación con la unión máxima del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141, y donde la máxima la unión del anticuerpo a una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 138 no se reduce sustancialmente (*por ejemplo*, no se reduce en más del 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% o 90%) en relación

con la unión máxima del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

[0080] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto o molécula que comprende una fracción de unión a CD73 y una fracción de unión a TGFβ.

5 **[0081]** En otro aspecto, la presente divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo descrito en este documento y un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable.

[0082] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un polinucleótido aislado que codifica un polipéptido del anticuerpo descrito en este documento. En ciertas realizaciones, el
10 polinucleótido comprende ADNc o ARNm. En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un vector que comprende el polinucleótido. En determinadas realizaciones, el vector es un vector plasmídico o un vector viral. En otro aspecto, la presente divulgación proporciona una célula huésped recombinante que comprende el polinucleótido o el vector. En otro aspecto, la presente divulgación proporciona una nanopartícula lipídica que comprende el
15 polinucleótido o el vector. En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un método para producir un anticuerpo, comprendiendo el método cultivar la célula huésped en condiciones adecuadas de modo que se exprese el polinucleótido y se produzca el anticuerpo. En otro aspecto, la presente divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo, polinucleótido, vector o nanopartícula lipídica y un portador o excipiente
20 farmacéuticamente aceptable.

[0083] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un método para tratar el cáncer en un sujeto, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad eficaz del anticuerpo, polinucleótido, vector, nanopartícula lipídica o composición farmacéutica descritos en el presente documento. En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un método para
25 inhibir la metástasis del cáncer en un sujeto, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad eficaz del anticuerpo, polinucleótido, vector, nanopartícula lipídica o composición farmacéutica descritos en el presente documento. En determinadas realizaciones, el anticuerpo, polinucleótido, vector, nanopartícula lipídica o composición farmacéutica se administra por vía intravenosa, intravenosa, intratumoral, subcutánea, intradérmica,
30 intramuscular, intravesical, intracraneal, intracavitaria o intraventricular. En determinadas realizaciones, el anticuerpo, polinucleótido, vector, nanopartícula lipídica o composición farmacéutica se administra por vía intratumoral.

[0084] En determinadas realizaciones, el método comprende además administrar uno o más agentes terapéuticos adicionales al sujeto. En determinadas realizaciones, el anticuerpo,

polinucleótido, vector, nanopartícula lipídica o composición farmacéutica, y el uno o más agentes terapéuticos adicionales se coadministran de acuerdo con el mismo programa (*por ejemplo*, se coadministran en los mismos intervalos de tiempo). En determinadas realizaciones, el anticuerpo, polinucleótido, vector, nanopartícula lipídica o composición farmacéutica, y el

5 uno o más agentes terapéuticos adicionales se coadministran de acuerdo con diferentes programas (*por ejemplo*, se coadministran a diferentes intervalos de tiempo). En determinadas realizaciones, el anticuerpo, polinucleótido, vector, nanopartícula lipídica o composición farmacéutica se coadministra con uno o más agentes terapéuticos adicionales que comprenden un activador o agonista de un receptor de tirosina quinasa 3 (FLT3; CD135, *por sus siglas en*

10 *inglés*) relacionado con fms, un receptor de tipo toll (TLR, *por sus siglas en inglés*) o un receptor estimulador de genes de interferón (STING, *por sus siglas en inglés*). En determinadas realizaciones, el agonista o activador de TLR se selecciona del grupo que consiste en un agonista de TLR2, un agonista de TLR3, un agonista de TLR7, un agonista de TLR8 y un agonista de TLR9. En determinadas realizaciones, el agonista o activador del receptor STING

15 se selecciona del grupo que consiste en ADU-S100 (MIW-815), SB-11285, MK-1454, SR-8291, AdVCA0848, GSK-532, SYN-STING, MSA-1, SR-8291, ácido 5,6-dimetilxantenona-4-acético (DMXAA, *por sus siglas en inglés*), GAMP cíclico (cGAMP, *por sus siglas en inglés*) y di-AMP cíclico. En determinadas realizaciones, el anticuerpo, polinucleótido, vector, nanopartícula lipídica o composición farmacéutica se coadministra con uno o más agentes

20 terapéuticos adicionales que comprenden un inhibidor o antagonista de: proteína tirosina fosfatasa, no receptor de tipo 11 (PTPN11 o SHP2), regulador de apoptosis de secuencia de leucemia de células mieloides 1 (MCL1, *por sus siglas en inglés*); proteína quinasa quinasa quinasa 1 activada por mitógeno (MAP4K1, *por sus siglas en inglés*) (también denominada Quinasa Progenitora Hematopoyética 1 (HPK1, *por sus siglas en inglés*));

25 diacilglicerol quinasa alfa (DGKA, DAGK, DAGK1 o DGK-alfa, *por sus siglas en inglés*); 5'-nucleotidasa ecto (NT5E o CD73); factor de crecimiento transformante beta 1 (TGFB1 o TGFβ); hemo oxigenasa 1 (HMOX₁, HO-1 o HO1, *por sus siglas en inglés*); factor de crecimiento endotelial vascular A (VEGFA o VEGF, *por sus siglas en inglés*); receptor de tirosina quinasa 2 erb-b2 (ERBB2 HER2, HER2/neu o CD340, *por sus siglas en inglés*);

30 receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR, ERBB, ERBB1 o HER1, *por sus siglas en inglés*); tirosina quinasa del receptor ALK (ALK, CD246); polimerasa poli(ADP-ribosa) 1 (PARP1 o PARP, *por sus siglas en inglés*); quinasa 4 dependiente de ciclina (CDK4, *por sus siglas en inglés*); quinasa 6 dependiente de ciclina (CDK6, *por sus siglas en inglés*); receptor 8 de quimiocinas con motivo C-C (CCR8, CDw198, *por sus siglas en inglés*); molécula de

CD274 (CD274, PDL1 o PD-L1); muerte celular programada 1 (PDCD1, PD1 o PD-1); y/o proteína 4 asociada a linfocitos T citotóxicos (CTLA4, CTLA-4, CD152). En determinadas realizaciones, el inhibidor comprende una molécula de unión a antígeno, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo. En determinadas realizaciones, el inhibidor

5 comprende una pequeña molécula orgánica. En determinadas realizaciones, el inhibidor de MCL1 se selecciona del grupo que consiste en AMG-176, AMG-397, S-64315, AZD-5991, 483-LM, A 1210477, UMI-77 y JKY-5-037. En determinadas realizaciones, el inhibidor de PTPN11 o SHP2 se selecciona del grupo que consiste en TNO155 (SHP-099), RMC-4550, JAB-3068 y RMC-4630.

10 **[0085]** En determinadas realizaciones, el uno o más agentes terapéuticos adicionales es un agente quimioterapéutico, antineoplásico, radioterapéutico o dirigido a punto de control. En determinadas realizaciones, el uno o más agentes antineoplásicos o quimioterapéuticos se seleccionan del grupo que consiste en un análogo de nucleósido (*por ejemplo*, 5-fluorouracilo, gemcitabina, citarabina), un taxano (*por ejemplo*, paclitaxel, nab-paclitaxel, docetaxel,

15 cabazitaxel), un complejo de coordinación de platino (cisplatino, carboplatino, oxaliplatino, nedaplatino, tetranitrato de triplatino, fenantriplatino, picoplatino, satraplatino, dicicloplatino, eptaplatino, lobaplatino, miriplatino), un inhibidor de la dihidrofolato reductasa (DHFR, *por sus siglas en inglés*) (*por ejemplo*, pemetreotrexato), un inhibidor de la topoisomerasa (*por ejemplo*, doxorubicina, daunorrubicina, dactinomicina, enipósido, epirubicina, etopósido,

20 idarubicina, irinotecán, mitoxantrona, pixantrona, sobuzoxano, topotecán, irinotecán, MM-398 (liposomal irinotecan), vosaroxin y GPX-150, aldorubicin, AR-67, mavelertinib, AST-2818, avitinib (ACEA-0010), irofulven (MGI-114)), un agente alquilante (*por ejemplo*, una mostaza nitrogenada (*por ejemplo*, ciclofosfamida, clormetina, uramustina o uracil mostaza, melfalán, clorambucilo, ifosfamida, bendamustina, temozolomida, carmustina), una

25 nitrosourea (*por ejemplo*, carmustina, lomustina, estreptozocina), un sulfonato de alquilo (*por ejemplo*, busulfano)) y mezclas de los mismos.

[0086] En determinadas realizaciones, el agente terapéutico adicional es un agente dirigido a punto de control. En determinadas realizaciones, el agente dirigido a punto de control se selecciona del grupo que consiste en un anticuerpo anti-PD-1 antagonista, un anticuerpo anti-

30 PD-L1 antagonista, un anticuerpo anti-PD-L2 antagonista, un anticuerpo anti-CTLA-4 antagonista, un anticuerpo anti-TIM-3 antagonista, un anticuerpo anti-LAG-3 antagonista, un anticuerpo anti-CEACAM1. antagonista, un anticuerpo anti-GITR agonista, un anticuerpo anti-TIGIT antagonista, un anticuerpo anti-VISTA antagonista, un anticuerpo anti-CD73 agonista, y un anticuerpo anti-OX40 agonista. En determinadas realizaciones, el agente terapéutico

- adicional es un anticuerpo anti-PD-1, en donde opcionalmente el anticuerpo anti-PD-1 es pembrolizumab o nivolumab. En determinadas realizaciones, el agente terapéutico adicional es un inhibidor de la indolamina-2,3-dioxigenasa (IDO, *por sus siglas en inglés*). En determinadas realizaciones, el inhibidor se selecciona del grupo que consiste en epacadostat, F001287, indoximod y NLG919. En determinadas realizaciones, el inhibidor es epacadostat. En determinadas realizaciones, el agente terapéutico adicional es una vacuna. En determinadas realizaciones, la vacuna comprende un complejo peptídico de proteína de choque térmico (HSPPC, *por sus siglas en inglés*) que comprende una proteína de choque térmico complejada con un péptido antigénico. En determinadas realizaciones, la proteína de choque térmico es hsc70 y forma un complejo con un péptido antigénico asociado a un tumor. En determinadas realizaciones, la proteína de choque térmico es gp96 y forma un complejo con un péptido antigénico asociado a un tumor, en donde la HSPPC se deriva de un tumor obtenido de un sujeto. En determinadas realizaciones, el agente terapéutico adicional es etopósido o doxorubicina.
- 15 **[0087]** En otro aspecto, el anticuerpo, polinucleótido, vector, nanopartícula lipídica o composición farmacéutica se coadministra con un régimen FOLFOX, un régimen FOLFOXIRI o un régimen FOLFIRINOX. En otro aspecto, el anticuerpo, polinucleótido, vector, nanopartícula lipídica o composición farmacéutica se coadministra con una inmunoterapia, una terapia immunoestimuladora, una terapia celular o una terapia génica.
- 20 **[0088]** En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado, polinucleótido, vector, nanopartícula lipídica o composición farmacéutica descritos en este documento para su uso en el tratamiento del cáncer.
- [0089]** En otro aspecto, la presente divulgación proporciona el uso de un anticuerpo aislado, polinucleótido, vector, nanopartícula lipídica o composición farmacéutica descritos en el presente documento para la preparación de un medicamento para tratar el cáncer.
- 25 **[0090]** En ciertas realizaciones de cualquiera de los aspectos del método de tratamiento del cáncer en un sujeto, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado, polinucleótido, vector, nanopartícula lipídica o composición farmacéutica para su uso en el tratamiento del cáncer, o el uso de un anticuerpo aislado, polinucleótido, vector, nanopartícula lipídica o composición farmacéutica descritos en este documento para la preparación de un medicamento para tratar el cáncer, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en un tumor sólido, un cáncer hematológico y una lesión metastásica. En determinadas realizaciones, el cáncer es un tumor sólido. En determinadas realizaciones, el tumor sólido se selecciona del grupo que consiste en un sarcoma, un sarcoma fibroblástico, un carcinoma y un
- 30

adenocarcinoma. En determinadas realizaciones, el cáncer es un cáncer hematológico. En determinadas realizaciones, el cáncer hematológico se selecciona del grupo que consiste en una leucemia, un linfoma y un mieloma. En determinadas realizaciones, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en un cáncer de pulmón, un melanoma, un cáncer de riñón, un cáncer de

5 hígado, un mieloma, un cáncer de próstata, un cáncer de mama, un cáncer de ovario, un cáncer colorrectal, un cáncer de páncreas, un cáncer de cabeza y cuello, un cáncer anal, un cáncer gastroesofágico, un mesotelioma, un cáncer nasofaríngeo, un cáncer de tiroides, un cáncer de cuello uterino, un cáncer epitelial, un cáncer peritoneal, una enfermedad linfoproliferativa, una leucemia linfoblástica aguda (*ALL, por sus siglas en inglés*), una leucemia mielógena aguda

10 (*AML, por sus siglas en inglés*), una leucemia linfocítica crónica (*CLL, por sus siglas en inglés*), una leucemia mielógena crónica (*CML, por sus siglas en inglés*), una leucemia mielomonocítica crónica (*CMML, por sus siglas en inglés*), una leucemia de células pilosas, un linfoma de células B, un linfoma difuso de células B grandes (*DLBCL, por sus siglas en inglés*), un linfoma difuso de células B grandes de tipo B activado (*ABC, por sus siglas en inglés*), un linfoma difuso de células B grandes de centro germinal (*GCB, por sus siglas en inglés*), un linfoma de células del manto, un linfoma de Hodgkin, un linfoma no Hodgkin, un linfoma no Hodgkin recidivante, un linfoma no Hodgkin refractario, un linfoma folicular no Hodgkin recurrente, un linfoma de Burkitt, un linfoma linfocítico pequeño, un linfoma folicular, un linfoma linfoplasmocítico y un linfoma extraganglionar de la zona marginal. En

20 ciertas realizaciones, el cáncer es un tumor sólido en o que surge de un tejido u órgano seleccionado del grupo que consiste en: hueso (*por ejemplo*, adamantinoma, quistes óseos aneurismáticos, angiosarcoma, condroblastoma, condroma, fibroma condromixoide, condrosarcoma, cordoma, condrosarcoma desdiferenciado, encondroma, hemangioendotelioma epitelioides, displasia fibrosa del hueso, tumor óseo de células gigantes, hemangiomas y lesiones relacionadas, osteoblastoma, osteocondroma, osteosarcoma, osteoma osteoide, osteoma, condroma perióstico, tumor desmoide, sarcoma de Ewing); labios y cavidad oral (*por ejemplo*, ameloblastoma odontogénico, leucoplasia oral, carcinoma oral de células escamosas, melanoma primario de la mucosa oral); glándulas salivales (*por ejemplo*, adenoma de glándula salival pleomórfica, carcinoma adenoide quístico de glándula salival, carcinoma mucoepidermoide de glándula salival, tumores de Warthin de glándula salival); esófago (*por*

30 *ejemplo*, esófago de Barrett, displasia y adenocarcinoma); tracto gastrointestinal, incluido el estómago (*por ejemplo*, adenocarcinoma gástrico, linfoma gástrico primario, tumores del estroma gastrointestinal (*GIST, por sus siglas en inglés*), depósitos metastásicos, carcinoides gástricos, sarcomas gástricos, carcinoma neuroendocrino, carcinoma de células escamosas

primario gástrico, adenoacantomas gástricos), intestinos y músculo liso (*por ejemplo* , leiomiomatosis intravenosa), colon (*por ejemplo*, adenocarcinoma colorrectal), recto, ano; páncreas (*por ejemplo*, neoplasias serosas, que incluyen cistadenoma seroso microquístico o macroquístico, cistadenoma seroso sólido, neoplasia quística serosa asociada a Von Hippel-

5 Landau (VHL, *por sus siglas en inglés*), cistadenocarcinoma seroso, neoplasias quísticas mucinosas (MCN, *por sus siglas en inglés*), neoplasias papilares intraductales (IPMN, *por sus siglas en inglés*), neoplasias papilares oncocíticas (IOPN, *por sus siglas en inglés*), neoplasias tubulares intraductales, neoplasias acinares quísticas, que incluyen cistadenoma de células acinares, cistadenocarcinoma de células acinares, adenocarcinoma pancreático,

10 adenocarcinomas ductales pancreáticos invasivos, incluidos adenocarcinoma tubular, carcinoma de anillo medular, carcinoma de coloma carcinoma de células, carcinoma indiferenciado, carcinoma indiferenciado con células gigantes similares a los osteoclastos, carcinoma de células acinares, neoplasias neuroendocrinas, microadenoma neuroendocrino, tumores neuroendocrinos (NET, *por sus siglas en inglés*), carcinoma neuroendocrino (NEC,

15 *por sus siglas en inglés*), incluyendo NEC de células pequeñas o grandes, insulinoma, gastrinoma, glucagonoma, NET productor de serotonina, somatostatina, VIPoma, neoplasias sólidas pseudopapilares (SPN, *por sus siglas en inglés*), pancreoblastoma); vesícula biliar (*por ejemplo*, carcinoma de la vesícula biliar y conductos biliares extrahepáticos, colangiocarcinoma intrahepático); neuroendocrino (*por ejemplo*, carcinoma cortical

20 suprarrenal, tumores carcinoides, feocromocitoma, adenomas hipofisarios); tiroides (*por ejemplo*, carcinoma anaplásico (indiferenciado), carcinoma medular, tumores oncocíticos, carcinoma papilar, adenocarcinoma); hígado (*por ejemplo*, adenoma, hepatocelular y colangiocarcinoma combinados, carcinoma fibrolamelar, hepatoblastoma, carcinoma hepatocelular, tumor epitelial del estroma mesenquimatoso anidado, carcinoma indiferenciado,

25 carcinoma hepatocelular, colangiocarcinoma intrahepático, angiocarcinoma de conductos biliares, cistadomiodenocarcinoma, angiocarcinoma epitelial epitelial) tumor fibroso, teratoma, tumor del saco de York, carcinosarcoma, tumor rabdoide); riñón (*por ejemplo*, carcinoma de células renales con reordenamiento de ALK, carcinoma de células renales cromóforo, carcinoma de células renales de células claras, sarcoma de células claras, adenoma

30 metanéfrico, adenofibroma metanéfrico, carcinoma mucinoso tubular y de células fusiformes, nefroma, nefroblastoma (tumor de Wilms), adenoma papilar, carcinoma papilar de células renales, oncocitoma renal, carcinoma de células renales, carcinoma de células renales deficiente en succinato deshidrogenasa, carcinoma del conducto colector); de mama (*por ejemplo*, carcinoma ductal invasivo, que incluye, entre otros, carcinoma de células acínicas,

carcinoma adenoide quístico, carcinoma apocrino, carcinoma cribiforme, carcinoma de células
claras/ricas en glucógeno, carcinoma inflamatorio, carcinoma rico en lípidos, carcinoma
medular, carcinoma metaplásico, carcinoma micropapilar, carcinoma mucinoso, carcinoma
neuroendocrino, carcinoma oncocítico, carcinoma papilar, carcinoma sebáceo, carcinoma
5 secretor de mama, carcinoma tubular, carcinoma lobulillar, que incluye, sin limitación,
carcinoma pleomórfico, carcinoma de células en anillo de sello, peritoneo (*por ejemplo*,
mesotelioma, cáncer de peritoneo primario); tejidos de órganos sexuales femeninos, incluido
el ovario (*por ejemplo*, coriocarcinoma, tumores epiteliales, tumores de células germinales,
tumores del estroma del cordón sexual), trompas de Falopio (*por ejemplo*, adenocarcinoma
10 seroso, adenocarcinoma mucinoso, adenocarcinoma endometrioide, adenocarcinoma de
células claras, carcinoma de células de transición, células escamosas carcinoma, carcinoma
indiferenciado, tumores de Müller, adenosarcoma, leiomiosarcoma, teratoma, tumores de
células germinales, coriocarcinoma, tumores trofoblásticos), útero (*por ejemplo*, carcinoma de
cuello uterino, pólipos endometriales, hiperplasia endometrial, carcinoma intraepitelial (EIC,
15 *por sus siglas en inglés*), *por ejemplo*, carcinoma endometrial carcinoma endometrioide,
carcinoma seroso, carcinoma de células claras, carcinoma mucinoso, carcinoma de células
escamosas, carcinoma de transición, carcinoma de células pequeñas, carcinoma indiferenciado,
neoplasia mesenquimatosas), leiomioma (*por ejemplo*, nódulo estromal endometrial,
leiomiosarcoma, tumores del estroma del endometrio (ESS), tumores mesenquimales),
20 tumores epiteliales y mesenquimales mixtos (*por ejemplo*, adenofibroma, carcinofibroma,
adenosarcoma, carcinosarcoma (sarcoma mesodérmico mixto maligno – MMT, *por sus*
siglas en inglés)), tumores del estroma endometrial, tumores mixtos mullerianos malignos del
endometrio, tumores trofoblásticos gestacionales (mola hidatiforme parcial, mola hidatiforme
completa, mola hidatiforme invasiva, tumor del sitio placentario), vulva, vagina; tejidos de
25 órganos sexuales masculinos, incluyendo próstata, testículos (*por ejemplo*, tumores de células
germinales, seminoma espermatocítico), pene; vejiga (*por ejemplo*, carcinoma de células
escamosas, carcinoma urotelial, carcinoma urotelial de vejiga); cerebro, (*por ejemplo*, gliomas
(*por ejemplo*, astrocitomas, incluidos glioblastomas no infiltrantes, de bajo grado, anaplásicos;
oligodendrogliomas, ependimomas), meningiomas, gangliogliomas, schwannomas
30 (neurilemomas), craneofaringiomas, cordomas, tumores no hodginitukinitarios; ojo (*por*
ejemplo, retinoma, retinoblastoma, melanoma ocular, melanoma uveal posterior, hamartoma
de iris); cabeza y cuello (*por ejemplo*, carcinoma nasofaríngeo, tumor del saco endolinfático
(ELST, *por sus siglas en inglés*), carcinoma epidermoide, cánceres de laringe, incluido el
carcinoma de células escamosas (SCC, *por sus siglas en inglés*) (*por ejemplo*, carcinoma

glótico, carcinoma supraglótico, carcinoma subglótico, carcinoma transglótico), carcinoma in situ, verrugoso, CCE de células fusiformes y basaloide, carcinoma indiferenciado, adenocarcinoma laríngeo, carcinoma adenoide quístico, carcinomas neuroendocrinos, carcinomas de cabeza y cuello laríngeos (*por ejemplo*, sarcoma de laringe) cuerpo, yugulotimpánico, vagal); timo (*por ejemplo*, timoma); corazón (*por ejemplo*, mixoma cardíaco); pulmón (*por ejemplo*, carcinoma de células pequeñas (SCLC, *por sus siglas en inglés*), carcinoma de células no pequeñas de pulmón (NSCLC, *por sus siglas en inglés*), que incluye carcinoma de células escamosas (SCC), adenocarcinoma y carcinoma de células grandes, carcinoides (típicos o atípicos), carcinosarcomas, blastomas pulmonares, carcinomas de células gigantes, carcinomas de células fusiformes, blastoma pleuropulmonar); linfoma (*por ejemplo*, linfomas, incluido el linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, enfermedades linfoproliferativas asociadas al virus de Epstein-Barr (EBV, *por sus siglas en inglés*), incluidos los linfomas de células B y linfomas de células T (*por ejemplo*, linfoma de Burkitt, linfoma de células B grandes, linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), linfoma de células del manto, linfoma de células B indolentes, linfoma de células B de bajo grado, linfoma difuso de células grandes asociado a fibrina; linfoma de derrame primario; linfoma plasmablastico; linfoma extraganglionar de células NK/T, tipo nasal; linfoma periférico de células T, linfoma cutáneo de células T, linfoma angioinmunoblástico de células T; linfoma folicular de células T; linfoma sistémico de células T), linfangioleiomiomatosis); sistema nervioso central (SNC) (*por ejemplo*, gliomas que incluyen tumores astrocíticos (*por ejemplo*, astrocitoma pilocítico, astrocitoma pilomixoide, astrocitoma subependimario de células gigantes, xantocitoma pleomórfico, astrocitoma difuso, astrocitoma fibrilar, astrocitoma gemistocítico, astrocitoma gigante, astrocitoma glioblastoma celular, gliosarcoma, glioblastoma multiforme) y gliomatosis cerebral), tumores oligodendrogiales (*por ejemplo*, oligodendroglioma, oligodendroglioma anaplásico), tumores oligoastrocíticos (*por ejemplo*, oligoastrocitoma, oligoastrocitoma anaplásico), tumores ependimarios (*por ejemplo*, subependimoma, ependimoma mixopapilar, ependimomas (*por ejemplo*, papilar, células claras, tanicítico), ependimoma anaplásico), glioma del nervio óptico y no gliomas (*por ejemplo*, tumores del plexo coroideo, tumores neuronales y neuronal-glial mixtos, tumores de la región pineal, tumores embrionarios, meduloblastoma, tumores meníngeos, linfomas del SNC primario, tumores de células germinales, adenomas hipofisarios, tumores nerviosos craneales y paraespinosos, tumores de la región estelar), neurofibroma, meningioma, tumores de la vaina nerviosa periférica, tumores neuroblásticos periféricos (que incluyen, entre otros, neuroblastoma, ganglioneuroblastoma, ganglioneuroma), ependimoma de trisomía 19); tejidos

neuroendocrinos (*por ejemplo*, sistema paragangliónico que incluye médula suprarrenal (feocromocitomas) y paragangliomas extraadrenales (paragangliomas (extraadrenales)); piel (*por ejemplo*, hidradenoma de células claras, histiocitomas fibrosos benignos cutáneos, cilindroma, hidradenoma, melanoma (incluido melanoma cutáneo), melanoma mucoso),

5 pilomatricoma, tumores de Spitz); y tejidos blandos (*por ejemplo*, angiomixoma agresivo, rabdomiosarcoma alveolar, sarcoma alveolar de partes blandas, angiofibroma, histiocitoma fibroso angiomatoide, sarcoma sinovial, sarcoma sinovial bifásico, sarcoma de células claras, sarcoma de células claras, dermatofibrosarcoma fibromatosis, tumor de células pequeñas y redondas, tumor desmoplásico de células pequeñas y redondas, elastofibroma,

10 rabdomiosarcoma embrionario, tumores de Ewing/tumores neurectodérmicos primitivos (PNET, *por sus siglas en inglés*), condrosarcoma mixoide extraesquelético, osteosarcoma extraesquelético, sarcoma paraespinal, tumor miofibroblástico inflamatorio, lipoblastondoma, tumor lipídico inflamatorio, lipoblastondoma/tumores lipomatosos malignos, liposarcoma, liposarcoma mixoide, sarcoma fibromixoide, linfangioleiomioma, mioepitelioma maligno,

15 melanoma maligno de partes blandas, carcinoma mioepitelial, mioepitelioma, sarcoma fibroblástico mixoinflamatorio, sarcoma indiferenciado, pericitoma, rabdomiosarcoma, sarcoma no rabdomiosarcoma de tejido blando (NRSTS, *por sus siglas en inglés*), leiomiosarcoma de tejido blando, sarcoma indiferencia, liposarcoma bien diferenciado. En determinadas realizaciones, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en un melanoma, un

20 cáncer gástrico, un cáncer de mama triple negativo (TNBC, *por sus siglas en inglés*), un cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), un adenocarcinoma rectal, un cáncer colorrectal, un carcinoma de células renales, cáncer de ovario, cáncer de próstata, carcinoma oral de células escamosas (SCC), carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC), cáncer de vejiga urotelial, glioblastoma (GBM), meningioma, cáncer suprarrenal y un cáncer de

25 endometrio.

[0091] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona el uso de un anticuerpo aislado, polinucleótido, vector, nanopartícula lipídica o composición farmacéutica como se describe en el presente documento en cualquiera de los métodos anteriores para el tratamiento del cáncer.

30 **[0092]** En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado, polinucleótido, vector, nanopartícula lipídica o composición farmacéutica como se describe en el presente documento, para su uso en cualquiera de los métodos anteriores para el tratamiento del cáncer.

[0093] A continuación se exponen realizaciones adicionales o alternativas de la invención descrita en el presente documento.

[0094] Realización 1. Un anticuerpo que se une a CD73 humana, el anticuerpo que comprende una región variable de cadena pesada que comprende regiones determinantes de complementariedad (CDRs) CDRH1, CDRH2 y CDRH3, y una región variable de cadena ligera que comprende regiones determinantes de complementariedad CDRL1, CDRL2, y CDRL3, en donde:

(a) CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de $X_1X_2WX_3X_4$ (SEQ ID NO.: 13), donde

- 10 X_1 es S o N;
 X_2 es S o Y;
 X_3 es I o M; y
 X_4 es N o H;

(b) CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de $X_1IYPRX_2X_3DTNXX_4X_5KFKX_6$ (SEQ ID NO.: 14), donde

- 15 X_1 es R o T;
 X_2 es N, A o S;
 X_3 es G o S;
 X_4 es N, A o S;
 20 X_5 es G o Q; y
 X_6 es D o G;

(c) CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de LLDYSMDY (SEQ ID NO.: 7);

(d) CDRL1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQDISX₁X₂LN (SEQ ID NO.: 16), donde

- 25 X_1 es N o I; y
 X_2 es Y o S;

(e) CDRL2 comprende la secuencia de aminoácidos de YTSRLHS (SEQ ID NO.: 10); y/o

(f) CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQGNTLPXT (SEQ ID NO.: 17), en donde:

- 30 X es L o W.

[0095] Realización 2. El anticuerpo de la realización 1, en donde CDRH1 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 1 y 2.

[0096] Realización 3. El anticuerpo de la realización 1 o 2, en donde CDRH2 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 3-6.

[0097] Realización 4. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde CDRL1 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 8 y 9.

5 **[0098]** Realización 5. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde CDRL3 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 11 y 12.

[0099] Realización 6. El anticuerpo de cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde:

(a) CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de SSWIN (SEQ ID NO.: 2);

10 (b) CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de RIYPRX₁GDTNYX₂GKFK_D (SEQ ID NO.: 15), donde

X₁ es N, A o S; y

X₂ es N, A o S;

(c) CDRL1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQDISX₁X₂LN (SEQ ID NO.: 16), donde

15 X₁ es N o I; y

X₂ es Y o S; y/o

(d) CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQGNTLPLT (SEQ ID NO.: 12).

[0100] Realización 7. El anticuerpo de la realización 6, en donde CDRH2 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 4-6.

20 **[0101]** Realización 8. El anticuerpo de la realización 6 o 7, en donde CDRL1 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO.: 8 y 9.

[0102] Realización 9. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde CDRH1, CDRH2 y CDRH3 comprenden las secuencias de aminoácidos de CDRH1, CDRH2 y CDRH3, respectivamente, establecidas en las SEQ ID NO: 2, 4 y 7. ; 2, 5 y 7; 1, 3 y 7; o 2, 6 y 7.

[0103] Realización 10. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde CDRL1, CDRL2 y CDRL3 comprenden las secuencias de aminoácidos de CDRL1, CDRL2 y CDRL3, respectivamente, establecidas en las SEQ ID NO.: 8, 10 y 12. ; 9, 10 y 12; o 8, 10 y 11.

30 **[0104]** Realización 11. El anticuerpo de cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 comprenden las secuencias de aminoácidos de CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3, respectivamente, adelante en las SEQ ID NO.: 2, 4, 7, 8, 10, y 12; 2, 5, 7, 8, 10, y 12; 1, 3, 7, 8, 10, y 11; 2, 4, 7, 8, 10, y 11; 2, 4, 7, 9, 10, y 12; 2, 6, 7, 8, 10, y 12; 2, 5, 7, 9, 10, y 12; o 2, 6, 7, 9, 10, y 12.

- [0105]** Realización 12. El anticuerpo de la realización 11, en donde CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 comprenden las secuencias de aminoácidos de CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3, respectivamente, establecidas en SEQ ID. NO: 2, 4, 7, 8, 10 y 12; o 2, 5, 7, 8, 10 y 12.
- 5 **[0106]** Realización 13. Un anticuerpo que se une a CD73 humana, el anticuerpo que comprende una región variable de cadena pesada que comprende CDRs CDRH1, CDRH2 y CDRH3, y una región variable de cadena ligera que comprende regiones determinantes de complementariedad CDRL1, CDRL2 y CDRL3, donde CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de LLDYSMDY (SEQ ID NO.: 7); y/o CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQGNTLPLT (SEQ ID NO.: 12) o QQGNTLPWT (SEQ ID NO.: 11).
- 10 **[0107]** Realización 14. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 31.
- [0108]** Realización 15. El anticuerpo de cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO.: 19-21 y 23-30.
- 15 **[0109]** Realización 16. El anticuerpo de la realización 15, en donde la región variable de la cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 19-21 y 23-30.
- 20 **[0110]** Realización 17. El anticuerpo de cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 23-30.
- 25 **[0111]** Realización 18. El anticuerpo de la realización 17, en donde la región variable de la cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO.: 23-30.
- 30 **[0112]** Realización 19. El anticuerpo de la realización 18, en donde la región variable de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 24 o 27.
- [0113]** Realización 20. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende una

secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal humana como se expone en SEQ ID NO.: 22.

[0114] Realización 21. El anticuerpo de cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el anticuerpo comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 41 o 42.

[0115] Realización 22. El anticuerpo de cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el anticuerpo comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO.: 33-35 y 37-40.

[0116] Realización 23. El anticuerpo de la realización 22, en donde la región variable de cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 33-35 y 37-40.

[0117] Realización 24. El anticuerpo de cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el anticuerpo comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO.: 37-40.

[0118] Realización 25. El anticuerpo de la realización 24, en donde la región variable de cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 37-40.

[0119] Realización 26. El anticuerpo de la realización 25, en donde la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 37.

[0120] Realización 27. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el anticuerpo comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal humana como se expone en SEQ ID NO.: 36.

[0121] Realización 28. El anticuerpo de cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde la región variable de la cadena pesada y la región variable de la cadena ligera, respectivamente, comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en las SEQ ID NO.: 24 y 37; 27 y 37; 19 y 33; 20 y 34; 21 y 35; 23 y 37; 23 y 38; 24 y 38; 25 y 37; 26 y 37; 28 y 37; 25 y 38; 26 y 38; 27 y 38; 28 y 38; 29 y 37; 30 y 37; 23 y 39; o 23 y 40.

- [0122] Realización 29. El anticuerpo de la realización 28, en donde la región variable de la cadena pesada y la región variable de la cadena ligera, respectivamente, comprenden las secuencias de aminoácidos indicadas en las SEQ ID NO.: 24 y 37; o 27 y 37.
- 5 [0123] Realización 30. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el anticuerpo comprende una región constante de cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁, y IgA₂ humanas.
- [0124] Realización 31. El anticuerpo de la realización 30, en donde la región constante de la cadena pesada es IgG₁.
- 10 [0125] Realización 32. El anticuerpo de la realización 31, en donde la secuencia de aminoácidos de IgG₁ comprende una mutación N297A, numerada según el sistema de numeración UE.
- [0126] Realización 33. El anticuerpo de la realización 32, en donde la región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 50, 49, 46, 45, 55 o 56.
- 15 [0127] Realización 34. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 63-88.
- [0128] Realización 35. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el anticuerpo comprende una región constante de cadena ligera seleccionada del grupo
- 20 que consiste en Igκ e Igλ humanas.
- [0129] Realización 36. El anticuerpo de la realización 35, en donde la región constante de cadena ligera es Igκ.
- [0130] Realización 37. El anticuerpo de la realización 36, en donde la región constante de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 93 u 89.
- 25 [0131] Realización 38. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el anticuerpo comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 92 y 94-98.
- [0132] Realización 39. El anticuerpo de cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el anticuerpo comprende una cadena pesada y una cadena ligera que comprende las
- 30 secuencias de aminoácidos indicadas en cualquier fila de la Tabla 4, preferiblemente la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO.: 79 y 97; 85 y 97; 77 y 97; 80 y 97; 86 y 97; 64 y 92; 70 y 96; o 78 y 97, respectivamente.
- [0133] Realización 40. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 15-39, en donde la X en cualquiera de las SEQ ID NO.: 19, 20 y 65-68 es glutamina.

- [0134] Realización 41. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 15-39, en donde la X en cualquiera de las SEQ ID NO.: 21, 23-30, 63, 64, 69-88 es glutamato.
- [0135] Realización 42. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 15-39, en donde la X en cualquiera de las SEQ ID N°: 19-21, 23-30 y 63-88 es piroglutamato.
- 5 [0136] Realización 43. Un anticuerpo que se une al mismo epítipo de la CD73 humana que el anticuerpo de cualquiera de las realizaciones precedentes.
- [0137] Realización 44. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el anticuerpo es un anticuerpo humanizado.
- [0138] Realización 45. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en
10 donde el anticuerpo es antagonista de la CD73 humana.
- [0139] Realización 46. El anticuerpo de la realización 45, en donde el anticuerpo desactiva, reduce o inhibe una actividad de la CD73 humana.
- [0140] Realización 47. El anticuerpo de la realización 45 o 46, en donde el anticuerpo atenúa la capacidad de la CD73 humana para convertir el monofosfato de adenosina en
15 adenosina.
- [0141] Realización 48. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el anticuerpo se internaliza tras la unión a células que expresan CD73 humana.
- [0142] Realización 49. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 1-48, que comprende además una fracción de unión a TGFβ.
- 20 [0143] Realización 50. El anticuerpo de la realización 49, en donde la fracción de unión a TGFβ está unida a la región variable de la cadena pesada.
- [0144] Realización 51. El anticuerpo de la realización 50, en donde la fracción de unión a TGFβ está unida a la región variable de la cadena pesada mediante un enlazador peptídico.
- [0145] Realización 52. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 30-48, que
25 comprende además una fracción de unión a TGFβ unida a la región constante de la cadena pesada.
- [0146] Realización 53. El anticuerpo de la realización 52, en donde la fracción de unión a TGFβ está unida al residuo C-terminal de la región constante de la cadena pesada.
- [0147] Realización 54. El anticuerpo de la realización 52 o 53, en donde el residuo N-
30 terminal de la fracción de unión a TGFβ está unida al residuo C-terminal de la región constante de la cadena pesada mediante un enlazador peptídico.
- [0148] Realización 55. El anticuerpo de la realización 51 o 54, en donde el enlazador peptídico comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 103-108.

- [0149] Realización 56. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 49-55, en donde la fracción de unión a TGF β se une a TGF β humano.
- 5 [0150] Realización 57. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 49-56, en donde la fracción de unión a TGF β comprende un dominio extracelular de un receptor de TGF β humano.
- [0151] Realización 58. El anticuerpo de la realización 57, en donde el receptor de TGF β humano se selecciona del grupo que consiste en TGF β R1, TGF β R2 y TGF β R3 humanos.
- [0152] Realización 59. El anticuerpo de la realización 57 o 58, en donde el receptor de TGF β humano es TGF β R2 humano.
- 10 [0153] Realización 60. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 49-59, en donde la fracción de unión a TGF β comprende una secuencia de aminoácidos al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO.: 109-112.
- [0154] Realización 61. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 49-60, en
15 donde la fracción de unión a TGF β consiste en una secuencia de aminoácidos al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO.: 109-112.
- [0155] Realización 62. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 49-61, en donde la fracción de unión a TGF β comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del
20 grupo que consiste en SEQ ID NO.: 109-112, preferiblemente SEQ ID NO.: 111.
- [0156] Realización 63. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 49-62, en donde la fracción de unión a TGF β consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 109-112, preferiblemente SEQ ID NO.: 111.
- [0157] Realización 64. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 49-63,
25 comprendiendo el anticuerpo un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 113-121, preferiblemente SEQ ID NO.: 114 o 115.
- [0158] Realización 65. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 49-64, en donde el anticuerpo comprende un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos
30 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 113-121 y un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 92 o 97.
- [0159] Realización 66. El anticuerpo de cualquiera de las realizaciones 49-65, en donde el anticuerpo comprende dos polipéptidos, cada uno de los cuales comprende una secuencia de

aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 113-121 y dos polipéptidos que comprenden cada uno la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 92 o 97.

5 [0160] Realización 67. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 49-66, en donde el anticuerpo comprende dos polipéptidos que comprenden cada uno la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 115 y dos polipéptidos que comprenden cada uno la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 97.

[0161] Realización 68. Un anticuerpo que se une a CD73 humana, comprendiendo el anticuerpo una fracción de unión a TGFβ.

10 [0162] Realización 69. El anticuerpo de la realización 68, en donde el anticuerpo es antagonista de la CD73 humana.

[0163] Realización 70. El anticuerpo de la realización 69, en donde el anticuerpo desactiva, reduce o inhibe una actividad de la CD73 humana.

15 [0164] Realización 71. El anticuerpo de la realización 69 o 70, en donde el anticuerpo atenúa la capacidad de la CD73 humana para convertir el monofosfato de adenosina en adenosina.

[0165] Realización 72. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 68-71, en donde el anticuerpo, cuando se une a TGFβ, es antagonista de la CD73 humana.

[0166] Realización 73. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 68-72, en donde la fracción de unión a TGFβ se une a TGFβ humano.

20 [0167] Realización 74. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 68-73, en donde la fracción de unión a TGFβ comprende un dominio extracelular de un receptor de TGFβ humano.

25 [0168] Realización 75. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 68-74, en donde el receptor de TGFβ humano se selecciona del grupo que consiste en TGFβR1, TGFβR2 y TGFβR3 humanos.

[0169] Realización 76. El anticuerpo de la realización 74 o 75, en donde el receptor de TGFβ humano es TGFβR2 humano.

30 [0170] Realización 77. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 68-76, en donde la fracción de unión a TGFβ comprende una secuencia de aminoácidos al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO.: 109-112.

[0171] Realización 78. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 68-77, en donde la fracción de unión de TGFβ consiste en una secuencia de aminoácidos al menos 75%,

80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93 %, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO.: 109-112.

5 **[0172]** Realización 79. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 68-78, en donde la fracción de unión a TGFβ comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 109-112, preferiblemente SEQ ID NO.: 111.

[0173] Realización 80. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 68-79, en donde la fracción de unión a TGFβ consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 109-112, preferiblemente SEQ ID NO.: 111.

10 **[0174]** Realización 81. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 1-48, que comprende además una fracción de unión a VEGF.

[0175] Realización 82. El anticuerpo de la realización 81, en donde la fracción de unión a VEGF está unida a la región variable de la cadena pesada.

[0176] Realización 83. El anticuerpo de la realización 82, en donde la fracción de unión a VEGF está unida a la región variable de la cadena pesada mediante un enlazador peptídico.

15 **[0177]** Realización 84. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 30-48, que comprende además una fracción de unión a VEGF unida a la región constante de la cadena pesada.

[0178] Realización 85. El anticuerpo de la realización 84, en donde la fracción de unión a VEGF está unida al residuo C-terminal de la región constante de la cadena pesada.

20 **[0179]** Realización 86. El anticuerpo de la realización 84 u 85, en donde el residuo N-terminal de la fracción de unión a VEGF está unida al residuo C-terminal de la región constante de la cadena pesada mediante un enlazador peptídico.

[0180] Realización 87. El anticuerpo de la realización 83 u 86, en donde el enlazador peptídico comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las
25 SEQ ID NO.: 103-108.

[0181] Realización 88. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 81-87, en donde la fracción de unión a VEGF se une a VEGF humano.

[0182] Realización 89. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 81-88, en donde la fracción de unión a VEGF comprende un dominio extracelular de un receptor de
30 VEGF humano.

[0183] Realización 90. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 81-89, en donde el receptor de VEGF humano se selecciona del grupo que consiste en VEGFR1, VEGFR2 y VEGFR3 humanos.

- [0184]** Realización 91. El anticuerpo de la realización 89 o 90, en donde el receptor de VEGF humano es VEGFR1 humano.
- [0185]** Realización 92. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 81-91, en donde la fracción de unión a VEGF comprende una secuencia de aminoácidos al menos 75%,
5 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93% , 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia indicada en SEQ ID NO.: 122.
- [0186]** Realización 93. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 81-92, en donde la fracción de unión a VEGF consiste en una secuencia de aminoácidos al menos 75%,
80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93 %, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia
10 indicada en SEQ ID NO.: 122.
- [0187]** Realización 94. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 81-93, en donde la fracción de unión a VEGF comprende la secuencia establecida en SEQ ID NO.: 122.
- [0188]** Realización 95. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 81-94, en donde la fracción de unión a VEGF consiste en la secuencia establecida en SEQ ID NO.: 122.
- [0189]** Realización 96. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 81-92,
15 comprendiendo el anticuerpo un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.s: 123-127.
- [0190]** Realización 97. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 81-96, en donde el anticuerpo comprende un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos
20 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 123-127 y un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 92, 128 y 97.
- [0191]** Realización 98. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 81-97, en donde el anticuerpo comprende dos polipéptidos que comprenden una secuencia de
25 aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 123-127 y dos polipéptidos que comprenden una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.: 92, 128 y 97.
- [0192]** Realización 99. Un anticuerpo que se une a CD73 humana, comprendiendo el anticuerpo una fracción de unión a VEGF.
- [0193]** Realización 100. El anticuerpo de la realización 99, en donde el anticuerpo es un
30 antagonista de la CD73 humana.
- [0194]** Realización 101. El anticuerpo de la realización 100, en donde el anticuerpo desactiva, reduce o inhibe una actividad de la CD73 humana.

- [0195]** Realización 102. El anticuerpo de la realización 100, en donde el anticuerpo atenúa la capacidad de la CD73 humana para convertir el monofosfato de adenosina en adenosina.
- [0196]** Realización 103. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 99-102, en donde el anticuerpo, cuando se une a VEGF, es antagonista de la CD73 humana.
- 5 **[0197]** Realización 104. El anticuerpo de la realización cualquiera de las realizaciones 99-103, en donde la fracción de unión a VEGF se une a VEGF humano.
- [0198]** Realización 105. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 99-104, en donde la fracción de unión a VEGF comprende un dominio extracelular de un receptor de VEGF humano.
- 10 **[0199]** Realización 106. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 99-105, en donde el receptor de VEGF humano se selecciona del grupo que consiste en VEGFR1, VEGFR2 y VEGFR3 humanos.
- [0200]** Realización 107. El anticuerpo de la realización 105 o 106, en donde el receptor de VEGF humano es VEGFR1 humano.
- 15 **[0201]** Realización 108. El anticuerpo de cualquiera de las realizaciones 99-107, en donde la fracción de unión a VEGF comprende una secuencia de aminoácidos al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93% , 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia indicada en SEQ ID NO.: 122.
- [0202]** Realización 109. El anticuerpo de cualquiera de las realizaciones 99-108, en donde
20 la fracción de unión a VEGF consiste en una secuencia de aminoácidos al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93 %, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia indicada en SEQ ID NO.: 122.
- [0203]** Realización 110. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 99-109, en donde la fracción de unión a VEGF comprende la secuencia de aminoácidos que se expone en
25 SEQ ID NO.: 122.
- [0204]** Realización 111. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 99-110, en donde la fracción de unión a VEGF consiste en la secuencia de aminoácidos que se establece en SEQ ID NO.: 122.
- [0205]** Realización 112. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones anteriores,
30 que comprende además un agente citotóxico conjugado, un agente citostático, una toxina, un radionúclido o un marcador detectable.
- [0206]** Realización 113. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el anticuerpo se une a un epítipo ubicado dentro de una región de la CD73 humana, la

secuencia de aminoácidos de la región que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 90 y/o 91.

- 5 **[0207]** Realización 114. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el anticuerpo se une a al menos un residuo en la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO.: 90 y/o 91.
- [0208]** Realización 115. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el anticuerpo se une a uno o más residuos de aminoácidos de CD73 humana seleccionados del grupo que consiste en Y158, Y161, P165 o D168, numerados según el aminoácido de SEQ ID NO.: 99.
- 10 **[0209]** Realización 116. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 133 se reduce sustancialmente en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.
- 15 **[0210]** Realización 117. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 134 se reduce sustancialmente en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.
- 20 **[0211]** Realización 118. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el anticuerpo se une al residuo de aminoácido Y158 de CD73 humana, numerado según la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 99.
- [0212]** Realización 119. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 59 se reduce sustancialmente en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.
- 25 **[0213]** Realización 120. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el anticuerpo se une al residuo de aminoácido Y161 de CD73 humana, numerado según la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 99.
- 30 **[0214]** Realización 121. El anticuerpo de cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 60 se reduce sustancialmente en relación con la afinidad de unión

del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

[0215] Realización 122. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el anticuerpo se une al residuo de aminoácido P165 de CD73 humana, numerado según la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 99.

[0216] Realización 123. El anticuerpo de cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 139 se reduce sustancialmente en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

[0217] Realización 124. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el anticuerpo se une al residuo de aminoácido D168 de CD73 humana, numerado según la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 99.

[0218] Realización 125. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 140 se reduce sustancialmente en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

[0219] Realización 126. El anticuerpo de cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 135 se reduce sustancialmente en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

[0220] Realización 127. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 136 se reduce sustancialmente en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

[0221] Realización 128. El anticuerpo de cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 142 se reduce sustancialmente en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141, y en donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 137 no se reduce sustancialmente en relación con

la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

5 **[0222]** Realización 129. El anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 142 se reduce sustancialmente en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141, y en donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 138 no se reduce sustancialmente en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

10 **[0223]** Realización 130. Un anticuerpo que se une a CD73 humana, en donde el anticuerpo se une a un epítipo ubicado dentro de una región de CD73 humana, la secuencia de aminoácidos de la región que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 90 y/o 91.

15 **[0224]** Realización 131. Un anticuerpo que se une a CD73 humana, en donde el anticuerpo se une a al menos un residuo en la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO.: 90 y/o 91.

[0225] Realización 132. Un anticuerpo que se une a CD73 humana, en donde el anticuerpo se une a uno o más residuos de aminoácidos de la CD73 humana seleccionado del grupo que consiste en Y158, Y161, P165 o D168, numerados de acuerdo con la secuencia de aminoácidos.

20 de SEQ ID NO.: 99.

[0226] Realización 133. Un anticuerpo que se une a CD73 humana, en donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 133 se reduce sustancialmente en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

25 **[0227]** Realización 134. Un anticuerpo que se une a CD73 humana, en donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 134 se reduce sustancialmente en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

[0228] Realización 135. Un anticuerpo que se une a CD73 humana, en donde el anticuerpo se une al residuo de aminoácido Y158 de la CD73 humana, numerado según la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 99.

30

[0229] Realización 136. Un anticuerpo que se une a CD73 humana, en donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ

ID NO.: 59 se reduce sustancialmente en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

[0230] Realización 137. Un anticuerpo que se une a CD73 humana, en donde el anticuerpo se une al residuo de aminoácido Y161 de la CD73 humana, numerado según la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 99.

[0231] Realización 138. Un anticuerpo que se une a CD73 humana, en donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 60 se reduce sustancialmente en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

[0232] Realización 139. Un anticuerpo que se une a CD73 humana, en donde el anticuerpo se une al residuo de aminoácido P165 de CD73 humana, numerado según la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 99.

[0233] Realización 140. Un anticuerpo que se une a CD73 humana, en donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 139 se reduce sustancialmente en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

[0234] Realización 141. Un anticuerpo que se une a CD73 humana, en donde el anticuerpo se une al residuo de aminoácido D168 de la CD73 humana, numerado según la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 99.

[0235] Realización 142. Un anticuerpo que se une a CD73 humana, en donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 140 se reduce sustancialmente en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

[0236] Realización 143. Un anticuerpo que se une a CD73 humana, en donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 135 se reduce sustancialmente en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

[0237] Realización 144. Un anticuerpo que se une a CD73 humana, en donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 136 se reduce sustancialmente en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

[0238] Realización 145. Un anticuerpo que se une a CD73 humana, en donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 142 se reduce sustancialmente en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por

una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141, y donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 137 no se reduce sustancialmente en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

- 5 **[0239]** Realización 146. Un anticuerpo que se une a CD73 humana, en donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 142 se reduce sustancialmente en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141, y en donde la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 138 no se reduce sustancialmente en relación con la afinidad de unión del anticuerpo por una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.: 141.

[0240] Realización 147. Un compuesto o molécula que comprende una fracción de unión a CD73 y una fracción de unión a TGF β .

- [0241]** Realización 148. Un polinucleótido que codifica un polipéptido del anticuerpo de una cualquiera de las realizaciones 1-146.

[0242] Realización 149. El polinucleótido de la realización 148, en donde el polinucleótido comprende ADNc o ARNm.

[0243] Realización 150. Un vector que comprende el polinucleótido de la realización 148 o 149.

- 20 **[0244]** Realización 151. El vector de la realización 150, en donde el vector es un vector plásmido o un vector viral.

[0245] Realización 152. Una célula huésped recombinante que comprende el polinucleótido de la realización 148 o 149, o el vector de la realización 150 o 151.

- [0246]** Realización 153. Una nanopartícula lipídica que comprende el polinucleótido de la realización 148 o 149, o el vector de la realización 150 o 151.

[0247] Realización 154. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo, polinucleótido, vector o nanopartícula lipídica de cualquiera de las realizaciones 1-146 o 148-153 y un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable.

- [0248]** Realización 155. Un método para producir un anticuerpo, comprendiendo el método cultivar la célula huésped de la realización 152 en condiciones adecuadas para que se exprese el polinucleótido y se produzca el anticuerpo.

[0249] Realización 156. Un método para tratar el cáncer en un sujeto, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad eficaz del anticuerpo, polinucleótido, vector,

nanopartícula lipídica o composición farmacéutica de cualquiera de las realizaciones 1-146, 148- 151, 153 o 154.

5 [0250] Realización 157. Un método para inhibir la metástasis del cáncer en un sujeto, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad eficaz del anticuerpo, polinucleótido, vector, nanopartícula lipídica o composición farmacéutica de cualquiera de las realizaciones 1-146, 148. -151, 153 o 154.

10 [0251] Realización 158. El método de la realización 156 o 157, en donde el anticuerpo, polinucleótido, vector, nanopartícula lipídica o composición farmacéutica se administra por vía intravenosa, intratumoral, subcutánea, intradérmica, intramuscular, intravesical, intracraneal, intracavitaria o intraventricular.

[0252] Realización 159. El método de la realización 156 o 157, en donde el anticuerpo, polinucleótido, vector, nanopartícula lipídica o composición farmacéutica se administra por vía intratumoral.

15 [0253] Realización 160. El método de una cualquiera de las realizaciones 156-159, que comprende además administrar uno o más agentes terapéuticos adicionales al sujeto.

[0254] Realización 161. El método de una cualquiera de las realizaciones 156-160, en donde el anticuerpo, polinucleótido, vector, nanopartícula lipídica o composición farmacéutica y uno o más agentes terapéuticos adicionales se administran conjuntamente de acuerdo con el mismo programa (*por ejemplo*, coadministrado en los mismos intervalos de tiempo).

20 [0255] Realización 162. El método de una cualquiera de las realizaciones 156-160, en donde el anticuerpo, polinucleótido, vector, nanopartícula lipídica o composición farmacéutica, y uno o más agentes terapéuticos adicionales se coadministran de acuerdo con diferentes programas (*por ejemplo*, coadministrado en diferentes intervalos de tiempo).

25 [0256] Realización 163. El método de una cualquiera de las realizaciones 156-162, en donde el anticuerpo, polinucleótido, vector, nanopartícula lipídica o composición farmacéutica se coadministra con uno o más agentes terapéuticos adicionales que comprenden un activador o agonista de un receptor de tirosina quinasa 3 (FLT3; CD135) relacionado con fms, un receptor tipo toll (TLR) o un receptor estimulador de genes de interferón (STING).

30 [0257] Realización 164. El método de la realización 163, en donde el agonista o activador de TLR se selecciona del grupo que consiste en un agonista de TLR2, un agonista de TLR3, un agonista de TLR7, un agonista de TLR8 y un agonista de TLR9.

[0258] Realización 165. El método de la realización 163, en donde el agonista o activador del receptor STING se selecciona del grupo que consiste en ADU-S100 (MIW-815), SB-

11285, MK-1454, SR-8291, AdVCA0848, GSK -532, SYN-STING, MSA-1, SR-8291, ácido 5,6-dimetilxantenona-4-acético (DMXAA), GAMP cíclico (cGAMP) y di-AMP cíclico.

[0259] Realización 166. El método de una cualquiera de las realizaciones 156-165, en donde el anticuerpo, polinucleótido, vector, nanopartícula lipídica o composición farmacéutica se coadministra con uno o más agentes terapéuticos adicionales que comprenden un inhibidor o antagonista de: proteína tirosina fosfatasa, no receptor de tipo 11 (PTPN11 o SHP2), regulador de apoptosis de secuencia de leucemia de células mieloides 1 (MCL1); proteína quinasa quinasa quinasa quinasa 1 activada por mitógeno (MAP4K1) (también denominada Quinasa Progenitora Hematopoyética 1 (HPK1)); diacilglicerol quinasa alfa (DGKA, DAGK, DAGK1 o DGK-alfa); 5'-nucleotidasa ecto (*NT5E* o CD73); factor de crecimiento transformante beta 1 (TGFB1 o TGFβ); hemo oxigenasa 1 (HMOX₁, HO-1 o HO1); factor de crecimiento endotelial vascular A (VEGFA o VEGF); receptor de tirosina quinasa 2 erb-b2 (ERBB2 HER2, HER2/neu o CD340); receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR, ERBB, ERBB1 o HER1); tirosina quinasa del receptor ALK (ALK, CD246); polimerasa poli(ADP-ribosa) 1 (PARP1 o PARP); quinasa 4 dependiente de ciclina (CDK4); quinasa 6 dependiente de ciclina (CDK6); receptor 8 de quimiocinas con motivo C-C (CCR8, CDw198); molécula de CD274 (CD274, PDL1 o PD-L1); muerte celular programada 1 (PDCD1, PD1 o PD-1); y/o proteína 4 asociada a linfocitos T citotóxicos (CTLA4, CTLA-4, CD152).

[0260] Realización 167. El método de la realización 166, en donde el inhibidor comprende una molécula de unión a antígeno, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

[0261] Realización 168. El método de la realización 166, en donde el inhibidor comprende una pequeña molécula orgánica.

[0262] Realización 169. El método de la realización 166, en donde el inhibidor de MCL1 se selecciona del grupo que consiste en AMG-176, AMG-397, S-64315, AZD-5991, 483-LM, A 1210477, UMI-77 y JKY-5-037.

[0263] Realización 170. El método de la realización 166, en donde el inhibidor de PTPN11 o SHP2 se selecciona del grupo que consiste en TNO155 (SHP-099), RMC-4550, JAB-3068 y RMC-4630.

[0264] Realización 171. El método de la realización 160, en donde el agente terapéutico adicional es un agente quimioterapéutico, antineoplásico, radioterapéutico o de control de diana.

[0265] Realización 172. El método de la realización 160, en donde uno o más agentes antineoplásicos o quimioterapéuticos se seleccionan del grupo que consiste en un análogo de nucleósido (*por ejemplo*, 5-fluorouracilo, gemcitabina, citarabina), un taxano (*por ejemplo*,

paclitaxel, nab-paclitaxel, docetaxel, cabazitaxel), un complejo de coordinación de platino (cisplatino, carboplatino, oxaliplatino, nedaplatino, tetranitrato de triplatino, fenantriplatino, picoplatino, satraplatino, dicicloplatino, eptaplatino, lobaplatino, miriplatino), un inhibidor de la dihidrofolato reductasa (DHFR) (*por ejemplo*, pemetreotrexato), un inhibidor de la topoisomerasa (*por ejemplo*, doxorubicina, daunorrubicina, dactinomicina, enipósido, epirubicina, etopósido, idarubicina, irinotecán, mitoxantrona, pixantrona, sobuzoxano, topotecán, irinotecán, MM-398 (liposomal irinaroxotecan), vosaroxin y GPX-150, aldoxorubicin, AR-67, mavelertinib, AST-2818, avitinib (ACEA-0010), irofulven (MGI-114)), un agente alquilante (*por ejemplo*, una mostaza nitrogenada (*por ejemplo*, ciclofosfamida, clormetina, uramustina o uracil mostaza, melfalán, clorambucilo, ifosfamida, bendamustina, temozolomida, carmustina), una nitrosourea (*por ejemplo*, carmustina, lomustina, estreptozocina), un sulfonato de alquilo (*por ejemplo*, busulfano)) y mezclas de los mismos.

[0266] Realización 173. El método de la realización 160, en donde el agente dirigido a punto de control se selecciona del grupo que consiste en un anticuerpo anti-PD-1 antagonista, un anticuerpo anti-PD-L1 antagonista, un anticuerpo anti-PD-L2 antagonista, un anticuerpo anti-CTLA-4 antagonista, un anticuerpo anti-TIM-3 antagonista, un anticuerpo anti-LAG-3 antagonista, un anticuerpo anti-CEACAM1. antagonista, un anticuerpo anti-GITR agonista, un anticuerpo anti-TIGIT antagonista, un anticuerpo anti-VISTA antagonista, un anticuerpo anti-CD73 agonista, y un anticuerpo anti-OX40 agonista.

[0267] Realización 174. El método de la realización 173, en donde el agente terapéutico adicional es un anticuerpo anti-PD-1, en donde opcionalmente el anticuerpo anti-PD-1 es pembrolizumab o nivolumab.

[0268] Realización 175. El método de la realización 160, en donde el agente terapéutico adicional es un inhibidor de la indolamina-2,3-dioxigenasa (IDO).

[0269] Realización 176. El método de la realización 175, en donde el inhibidor se selecciona del grupo que consiste en epacadostat, F001287, indoximod y NLG919.

[0270] Realización 177. El método de la realización 176, en donde el inhibidor es epacadostat.

[0271] Realización 178. El método de la realización 160, en donde el agente terapéutico adicional es una vacuna.

[0272] Realización 179. El método de la realización 178, en donde la vacuna comprende un complejo peptídico de proteína de choque térmico (HSPPC) que comprende una proteína de choque térmico complejada con un péptido antigénico.

- [0273] Realización 180. El método de la realización 179, en donde la proteína de choque térmico es hsc70 y forma un complejo con un péptido antigénico asociado al tumor.
- [0274] Realización 181. El método de la realización 179, en donde la proteína de choque térmico es gp96 y forma un complejo con un péptido antigénico asociado a tumor, en donde la
5 HSPPC se deriva de un tumor obtenido de un sujeto.
- [0275] Realización 182. El método de la realización 160, en donde el agente terapéutico adicional es etopósido o doxorubicina.
- [0276] Realización 183. El método de una cualquiera de las realizaciones 156-182, en donde el anticuerpo, polinucleótido, vector, nanopartícula lipídica o composición farmacéutica
10 se coadministra con un régimen FOLFOX, un régimen FOLFOXIRI o un régimen FOLFIRINOX.
- [0277] Realización 184. El método de una cualquiera de las realizaciones 156-183, en donde el anticuerpo, polinucleótido, vector, nanopartícula lipídica o composición farmacéutica se coadministra con una inmunoterapia, una terapia inmunoestimuladora, una terapia celular o
15 una terapia génica.
- [0278] Realización 185. El método de una cualquiera de las realizaciones 156-184, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en un tumor sólido, un cáncer hematológico y una lesión metastásica.
- [0279] Realización 186. El método de la realización 185, en donde el tumor sólido se
20 selecciona del grupo que consiste en un sarcoma, un sarcoma fibroblástico, un carcinoma y un adenocarcinoma.
- [0280] Realización 187. El método de la realización 185, en donde el cáncer hematológico se selecciona del grupo que consiste en una leucemia, un linfoma y un mieloma.
- [0281] Realización 188. El método de una cualquiera de las realizaciones 156-184, en
25 donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en un cáncer de pulmón, un melanoma, un cáncer de riñón, un cáncer de hígado, un mieloma, un cáncer de próstata, un cáncer de mama, un cáncer de ovario, un cáncer colorrectal, un cáncer de páncreas, un cáncer de cabeza y cuello, un cáncer anal, un cáncer gastroesofágico, un mesotelioma, un cáncer nasofaríngeo, un cáncer de tiroides, un cáncer de cuello uterino, un cáncer epitelial, un cáncer peritoneal, una
30 enfermedad linfoproliferativa, una leucemia linfoblástica aguda (ALL), una leucemia mielógena aguda (AML), una leucemia linfocítica crónica (CLL), una leucemia mielógena crónica (CML), una leucemia mielomonocítica crónica (CMML), una leucemia de células pilosas, un linfoma de células B, un linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), un linfoma difuso de células B grandes de tipo B activado (ABC), un linfoma difuso de células B grandes

de centro germinal (GCB), un linfoma de células del manto, un linfoma de Hodgkin, un linfoma no Hodgkin, un linfoma no Hodgkin recidivante, un linfoma no Hodgkin refractario, un linfoma folicular no Hodgkin recurrente, un linfoma de Burkitt, un linfoma linfocítico pequeño, un linfoma folicular, un linfoma linfoplasmocítico y un linfoma extraganglionar de la zona marginal.

[0282] Realización 189. El método de una cualquiera de las realizaciones 156 a 184, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en un tumor epitelial (*por ejemplo*, un carcinoma, un carcinoma de células escamosas, un carcinoma de células basales, una neoplasia intraepitelial escamosa), un tumor glandular (*por ejemplo*, un adenocarcinoma, un adenoma, un adenomioma), un tumor mesenquimatoso o de tejido blando (*por ejemplo*, un sarcoma, un rhabdomyosarcoma, un leiomyosarcoma, un liposarcoma, un fibrosarcoma, un dermatofibrosarcoma, un neurofibrosarcoma, un histiocitoma, un angiosarcoma, un angiomixoma, un leiomioma, un condroma, un condrosarcoma, un sarcoma alveolar de partes blandas, un hemangioendotelioma epitelioide, un tumor de Spitz, un sarcoma sinovial) y un linfoma.

[0283] Realización 190. El método de cualquiera de las realizaciones 156 a 184, en donde el cáncer es un tumor sólido en o que surge de un tejido u órgano seleccionado del grupo que consiste en: hueso (*por ejemplo*, adamantinoma, quistes óseos aneurismáticos, angiosarcoma, condroblastoma, condroma, fibroma condromixoide, condrosarcoma, cordoma, condrosarcoma desdiferenciado, encondroma, hemangioendotelioma epitelioide, displasia fibrosa del hueso, tumor óseo de células gigantes, hemangiomas y lesiones relacionadas, osteoblastoma, osteocondroma, osteosarcoma, osteoma osteoide, osteoma, condroma perióstico, tumor desmoide, sarcoma de Ewing); labios y cavidad oral (*por ejemplo*, ameloblastoma odontogénico, leucoplasia oral, carcinoma oral de células escamosas, melanoma primario de la mucosa oral); glándulas salivales (*por ejemplo*, adenoma de glándula salival pleomórfica, carcinoma adenoide quístico de glándula salival, carcinoma mucoepidermoide de glándula salival, tumores de Warthin de glándula salival); esófago (*por ejemplo*, esófago de Barrett, displasia y adenocarcinoma); tracto gastrointestinal, incluido el estómago (*por ejemplo*, adenocarcinoma gástrico, linfoma gástrico primario, tumores del estroma gastrointestinal (GISTs), depósitos metastásicos, carcinoides gástricos, sarcomas gástricos, carcinoma neuroendocrino, carcinoma de células escamosas primario gástrico, adenoacantomas gástricos), intestinos y músculo liso (*por ejemplo*, leiomiomatosis intravenosa), colon (*por ejemplo*, adenocarcinoma colorrectal), recto, ano; páncreas (*por ejemplo*, neoplasias serosas, que incluyen cistadenoma seroso microquístico o macroquístico,

cistadenoma seroso sólido, neoplasia quística serosa asociada a Von Hippel-Landau (VHL), cistadenocarcinoma seroso, neoplasias quísticas mucinosas (MCN), neoplasias papilares intraductales (IPMN), neoplasias papilares oncocíticas (IOPN), neoplasias tubulares intraductales, neoplasias acinares quísticas, que incluyen cistadenoma de células acinares,

5 cistadenocarcinoma de células acinares, adenocarcinoma pancreático, adenocarcinomas ductales pancreáticos invasivos, incluidos adenocarcinoma tubular, carcinoma de anillo medular, carcinoma de coloma carcinoma de células, carcinoma indiferenciado, carcinoma indiferenciado con células gigantes similares a los osteoclastos, carcinoma de células acinares, neoplasias neuroendocrinas, microadenoma neuroendocrino, tumores neuroendocrinos (NET),

10 carcinoma neuroendocrino (NEC), incluyendo NEC de células pequeñas o grandes, insulinooma, gastrinooma, glucagonoma, NET productor de serotonina, somatostatinooma, VIPoma, neoplasias sólidas pseudopapilares (SPN), pancreoblastoma); vesícula biliar (*por ejemplo*, carcinoma de la vesícula biliar y conductos biliares extrahepáticos, colangiocarcinoma intrahepático); neuroendocrino (*por ejemplo*, carcinoma cortical

15 suprarrenal, tumores carcinoides, feocromocitoma, adenomas hipofisarios); tiroides (*por ejemplo*, carcinoma anaplásico (indiferenciado), carcinoma medular, tumores oncocíticos, carcinoma papilar, adenocarcinoma); hígado (*por ejemplo*, adenoma, hepatocelular y colangiocarcinoma combinados, carcinoma fibrolamelar, hepatoblastoma, carcinoma hepatocelular, tumor epitelial del estroma mesenquimatoso anidado, carcinoma indiferenciado,

20 carcinoma hepatocelular, colangiocarcinoma intrahepático, angiocarcinoma de conductos biliares, cistadomiodenocarcinoma, angiocarcinoma epitelial epitelial) tumor fibroso, teratoma, tumor del saco de York, carcinosarcoma, tumor rabdoide); riñón (*por ejemplo*, carcinoma de células renales con reordenamiento de ALK, carcinoma de células renales cromóforo, carcinoma de células renales de células claras, sarcoma de células claras, adenoma

25 metanéfrico, adenofibroma metanéfrico, carcinoma mucinoso tubular y de células fusiformes, nefroma, nefroblastoma (tumor de Wilms), adenoma papilar, carcinoma papilar de células renales, oncocitoma renal, carcinoma de células renales, carcinoma de células renales deficiente en succinato deshidrogenasa, carcinoma del conducto colector); de mama (*por ejemplo*, carcinoma ductal invasivo, que incluye, entre otros, carcinoma de células acínicas,

30 carcinoma adenoide quístico, carcinoma apocrino, carcinoma cribiforme, carcinoma de células claras/ricas en glucógeno, carcinoma inflamatorio, carcinoma rico en lípidos, carcinoma medular, carcinoma metaplásico, carcinoma micropapilar, carcinoma mucinoso, carcinoma neuroendocrino, carcinoma oncocítico, carcinoma papilar, carcinoma sebáceo, carcinoma secretor de mama, carcinoma tubular, carcinoma lobulillar, que incluye, sin limitación,

carcinoma pleomórfico, carcinoma de células en anillo de sello, peritoneo (*por ejemplo*, mesotelioma, cáncer de peritoneo primario); tejidos de órganos sexuales femeninos, incluido el ovario (*por ejemplo*, coriocarcinoma, tumores epiteliales, tumores de células germinales, tumores del estroma del cordón sexual), trompas de Falopio (*por ejemplo*, adenocarcinoma seroso, adenocarcinoma mucinoso, adenocarcinoma endometrioide, adenocarcinoma de células claras, carcinoma de células de transición, células escamosas carcinoma, carcinoma indiferenciado, tumores de Müller, adenosarcoma, leiomiosarcoma, teratoma, tumores de células germinales, coriocarcinoma, tumores trofoblásticos), útero (*por ejemplo*, carcinoma de cuello uterino, pólipos endometriales, hiperplasia endometrial, carcinoma intraepitelial (EIC), *por ejemplo*, carcinoma endometrial carcinoma endometrioide, carcinoma seroso, carcinoma de células claras, carcinoma mucinoso, carcinoma de células escamosas, carcinoma de transición, carcinoma de células pequeñas, carcinoma indiferenciado, neoplasia mesenquimatosas), leiomioma (*por ejemplo*, nódulo estromal endometrial, leiomiosarcoma, tumores del estroma del endometrio (ESS), tumores mesenquimales), tumores epiteliales y mesenquimales mixtos (*por ejemplo*, adenofibroma, carcinofibroma, adenosarcoma, carcinosarcoma (sarcoma mesodérmico mixto maligno – MMT)), tumores del estroma endometrial, tumores mixtos mullerianos malignos del endometrio, tumores trofoblásticos gestacionales (mola hidatiforme parcial, mola hidatiforme completa, mola hidatiforme invasiva, tumor del sitio placentario), vulva, vagina; tejidos de órganos sexuales masculinos, incluyendo próstata, testículos (*por ejemplo*, tumores de células germinales, seminoma espermatocítico), pene; vejiga (*por ejemplo*, carcinoma de células escamosas, carcinoma urotelial, carcinoma urotelial de vejiga); cerebro, (*por ejemplo*, gliomas (*por ejemplo*, astrocitomas, incluidos glioblastomas no infiltrantes, de bajo grado, anaplásicos; oligodendrogliomas, ependimomas), meningiomas, gangliogliomas, schwannomas (neurileomas), craneofaringiomas, cordomas, tumores no hodgkitunitarios; ojo (*por ejemplo*, retinoma, retinoblastoma, melanoma ocular, melanoma uveal posterior, hamartoma de iris); cabeza y cuello (*por ejemplo*, carcinoma nasofaríngeo, tumor del saco endolinfático (ELST), carcinoma epidermoide, cánceres de laringe, incluido el carcinoma de células escamosas (SCC) (*por ejemplo*, carcinoma glótico, carcinoma supraglótico, carcinoma subglótico, carcinoma transglótico), carcinoma in situ, verrugoso, CCE de células fusiformes y basaloide, carcinoma indiferenciado, adenocarcinoma laríngeo, carcinoma adenoide quístico, carcinomas neuroendocrinos, carcinomas de cabeza y cuello laríngeos (*por ejemplo*, sarcoma de laringe) cuerpo, yugulotimpánico, vagal); timo (*por ejemplo*, timoma); corazón (*por ejemplo*, mixoma cardíaco); pulmón (*por ejemplo*, carcinoma de células pequeñas (SCLC),

carcinoma de células no pequeñas de pulmón (NSCLC), que incluye carcinoma de células escamosas (SCC), adenocarcinoma y carcinoma de células grandes, carcinoides (típicos o atípicos), carcinosarcomas, blastomas pulmonares, carcinomas de células gigantes, carcinomas de células fusiformes, blastoma pleuropulmonar); linfoma (*por ejemplo*, linfomas, incluido el

5 linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, enfermedades linfoproliferativas asociadas al virus de Epstein-Barr (EBV), incluidos los linfomas de células B y linfomas de células T (*por ejemplo*, linfoma de Burkitt, linfoma de células B grandes, linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), linfoma de células del manto, linfoma de células B indolentes, linfoma de células B de bajo grado, linfoma difuso de células grandes asociado a fibrina; linfoma de derrame

10 primario; linfoma plasmablastico; linfoma extraganglionar de células NK/T, tipo nasal; linfoma periférico de células T, linfoma cutáneo de células T, linfoma angioinmunoblástico de células T; linfoma folicular de células T; linfoma sistémico de células T), linfangioleiomiomatosis); sistema nervioso central (SNC) (*por ejemplo*, gliomas que incluyen tumores astrocíticos (*por ejemplo*, astrocitoma pilocítico, astrocitoma pilomixóide, astrocitoma

15 subependimario de células gigantes, xantoastrocitoma pleomórfico, astrocitoma difuso, astrocitoma fibrilar, astrocitoma gemistocítico, astrocitoma gigante, astrocitoma glioblastoma celular, gliosarcoma, glioblastoma multiforme) y gliomatosis cerebri), tumores oligodendrogliales (*por ejemplo*, oligodendroglioma, oligodendroglioma anaplásico), tumores oligoastrocíticos (*por ejemplo*, oligoastrocitoma, oligoastrocitoma anaplásico), tumores

20 ependimarios (*por ejemplo*, subependimoma, ependimoma mixopapilar, ependimomas (*por ejemplo*, papilar, células claras, tanicítico), ependimoma anaplásico), glioma del nervio óptico y no gliomas (*por ejemplo*, tumores del plexo coroideo, tumores neuronales y neuronal-glial mixtos, tumores de la región pineal, tumores embrionarios, meduloblastoma, tumores menínges, linfomas del SNC primario, tumores de células germinales, adenomas hipofisarios,

25 tumores nerviosos craneales y paraespinosos, tumores de la región estelar), neurofibroma, meningioma, tumores de la vaina nerviosa periférica, tumores neuroblásticos periféricos (que incluyen, entre otros, neuroblastoma, ganglioneuroblastoma, ganglioneuroma), ependimoma de trisomía 19); tejidos neuroendocrinos (*por ejemplo*, sistema paragangliónico que incluye médula suprarrenal (feocromocitomas) y paragangliomas extraadrenales (paragangliomas

30 (extraadrenales)); piel (*por ejemplo*, hidradenoma de células claras, histiocitomas fibrosos benignos cutáneos, cilindroma, hidradenoma, melanoma (incluido melanoma cutáneo), melanoma mucoso), pilomatricoma, tumores de Spitz); y tejidos blandos (*por ejemplo*, angiomixoma agresivo, rabdomiosarcoma alveolar, sarcoma alveolar de partes blandas, angiofibroma, histiocitoma fibroso angiomatósido, sarcoma sinovial, sarcoma sinovial bifásico,

sarcoma de células claras, sarcoma de células claras, dermatofibrosarcoma fibromatosis, tumor de células pequeñas y redondas, tumor desmoplásico de células pequeñas y redondas, elastofibroma, rabdomiosarcoma embrionario, tumores de Ewing/tumores neurectodérmicos primitivos (PNET), condrosarcoma mixoide extraesquelético, osteosarcoma extraesquelético, 5 sarcoma paraespinal, tumor miofibroblástico inflamatorio, lipoblastondoma, tumor lipídico inflamatorio, lipoblastondoma/tumores lipomatosos malignos, liposarcoma, liposarcoma mixoide, sarcoma fibromixoide, linfangioleiomioma, mioepitelioma maligno, melanoma maligno de partes blandas, carcinoma mioepitelial, mioepitelioma, sarcoma fibroblástico mixoinflamatorio, sarcoma indiferenciado, pericitoma, rabdomiosarcoma, sarcoma no 10 rabdomiosarcoma de tejido blando (NRSTS), leiomiosarcoma de tejido blando, sarcoma indiferencia, liposarcoma bien diferenciado.

[0284] Realización 191. El método de una cualquiera de las realizaciones 156-184, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en un melanoma, un cáncer gástrico, un cáncer de mama triple negativo (TNBC), un cáncer de pulmón de células no pequeñas 15 (NSCLC), un adenocarcinoma de recto, un cáncer colorrectal, un carcinoma de células renales, un cáncer de ovario, un cáncer de próstata, un carcinoma oral de células escamosas (SCC), un carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC), un cáncer de vejiga urotelial , un glioblastoma (GBM), un meningioma, cáncer suprarrenal y cáncer de endometrio.

[0285] Realización 192. El anticuerpo, polinucleótido, vector, nanopartícula lipídica o 20 composición farmacéutica de cualquiera de las realizaciones 1-146, 148-151, 153 o 154 para su uso en el tratamiento del cáncer.

[0286] Realización 193. El anticuerpo, polinucleótido, vector, nanopartícula lipídica o composición farmacéutica para uso de la realización 192, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en un tumor sólido, un cáncer hematológico y una lesión metastásica.

25 **[0287]** Realización 194. El anticuerpo, polinucleótido, vector, nanopartícula lipídica o composición farmacéutica para uso de la realización 192, en donde el tumor sólido se selecciona del grupo que consiste en un sarcoma, un sarcoma fibroblástico, un carcinoma y un adenocarcinoma.

30 **[0288]** Realización 195. El anticuerpo, polinucleótido, vector, nanopartícula lipídica o composición farmacéutica para uso de la realización 192, en donde el cáncer hematológico se selecciona del grupo que consiste en una leucemia, un linfoma y un mieloma.

[0289] Realización 196. El anticuerpo, polinucleótido, vector, nanopartícula lipídica o composición farmacéutica para uso de cualquiera de las realizaciones 192-195, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en un cáncer de pulmón, un melanoma, un cáncer

- renal, un cáncer de hígado, un mieloma, un cáncer de próstata, un cáncer de mama, un cáncer de ovario, un cáncer colorrectal, un cáncer de páncreas, un cáncer de cabeza y cuello, un cáncer anal, un cáncer gastroesofágico, un mesotelioma, un cáncer nasofaríngeo, un cáncer de tiroides, un cáncer de cuello uterino, un cáncer epitelial, un cáncer peritoneal, una enfermedad
- 5 linfoproliferativa, una leucemia linfoblástica aguda (ALL), una leucemia mielógena aguda (AML), una leucemia linfocítica crónica (CLL), una leucemia mielógena crónica (CML), una leucemia mielomonocítica crónica (CMML), una leucemia de células pilosas, un linfoma de células B, un linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), un linfoma difuso de células B grandes similar a las células B activadas (ABC), un linfoma difuso de células B grandes de
- 10 centro germinal (GCB), un linfoma de células del manto, un linfoma de Hodgkin, un linfoma no Hodgkin, un linfoma no Hodgkin recidivante, un linfoma no Hodgkin refractario, un linfoma folicular no Hodgkin recurrente, un linfoma de Burkitt, un linfoma linfocítico pequeño, un linfoma folicular linfoma, un linfoma linfoplasmocítico y un linfoma extraganglionar de la zona marginal.
- 15 **[0290]** Realización 197. El anticuerpo, polinucleótido, vector, nanopartícula lipídica o composición farmacéutica de cualquiera de las realizaciones 192-195, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en un melanoma, un cáncer gástrico, una mama triple negativa. cáncer (TNBC), un cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), un adenocarcinoma de recto, un cáncer colorrectal, un carcinoma de células renales, un cáncer de
- 20 ovario, un cáncer de próstata, un carcinoma oral de células escamosas (SCC), una cabeza y cuello carcinoma de células escamosas (HNSCC), cáncer de vejiga urotelial, glioblastoma (GBM), meningioma, cáncer suprarrenal y cáncer de endometrio.
- [0291]** Realización 198. Uso del anticuerpo, polinucleótido, vector, nanopartícula lipídica o composición farmacéutica de cualquiera de las realizaciones 1-146, 148-151, 153 o 154 para
- 25 la preparación de un medicamento para tratar el cáncer.
- [0292]** Realización 199. El uso de la realización 198, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en un tumor sólido, un cáncer hematológico y una lesión metastásica.
- [0293]** Realización 200. El uso de la realización 199, en donde el tumor sólido se selecciona del grupo que consiste en un sarcoma, un sarcoma fibroblástico, un carcinoma y un
- 30 adenocarcinoma.
- [0294]** Realización 201. El uso de la realización 199, en donde el cáncer hematológico se selecciona del grupo que consiste en una leucemia, un linfoma y un mieloma.
- [0295]** Realización 202. El uso de una cualquiera de las realizaciones 198-201, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en un cáncer de pulmón, un melanoma, un cáncer

de riñón, un cáncer de hígado, mieloma, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer colorrectal, cáncer de páncreas, cáncer de cabeza y cuello, cáncer anal, cáncer gastroesofágico, mesotelioma, cáncer nasofaríngeo, cáncer de tiroides, cáncer de cuello uterino, cáncer epitelial, cáncer peritoneal, enfermedad linfoproliferativa, leucemia

5 linfoblástica aguda (ALL), leucemia mielógena aguda (AML), leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia mielógena crónica (CML), una leucemia mielomonocítica crónica (CMML), una leucemia de células pilosas, un linfoma de células B, un linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), un linfoma difuso de células B grandes similar a las células B activadas (ABC), un linfoma difuso de células B grandes de centro germinal (GCB), un linfoma de

10 células del manto, un linfoma de Hodgkin, un linfoma no Hodgkin, un linfoma no Hodgkin recidivante, un linfoma no Hodgkin refractario, un linfoma no Hodgkin folicular recurrente, un linfoma de Burkitt, un pequeño linfoma linfocítico, un linfoma folicular, al linfoma linfoplasmocítico y un linfoma extraganglionar de la zona marginal.

[0296] Realización 203. El uso de cualquiera de las realizaciones 198-201, en donde el

15 cáncer se selecciona del grupo que consiste en un melanoma, un cáncer gástrico, un cáncer de mama triple negativo (TNBC), un cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), un adenocarcinoma de recto, un cáncer colorrectal, un carcinoma de células renales, un cáncer de ovario, un cáncer de próstata, un carcinoma oral de células escamosas (SCC), un carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC), un cáncer de vejiga urotelial, un glioblastoma

20 (GBM), un meningioma, cáncer suprarrenal y cáncer de endometrio.

[0297] Realización 204. El anticuerpo, polinucleótido, vector, nanopartícula lipídica o composición farmacéutica de cualquiera de las realizaciones 1-146, 148-151, 153 o 154, para su uso en el método de cualquiera de las realizaciones 156-191.

[0298] Realización 205. Uso del anticuerpo, polinucleótido, vector, nanopartícula lipídica

25 o composición farmacéutica de cualquiera de las realizaciones 1-146, 148-151, 153 o 154 en el método de una cualquiera de las realizaciones 156-191.

4. BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0299] La **Figura 1** es un conjunto de gráficos que muestran la unión de anticuerpos anti-CD73 (BA013, BA014, BA015, o un anticuerpo de referencia ("RA001")), o un anticuerpo de

30 control de isotipo, a células de ovario de hámster chino (CHO, *por sus siglas en inglés*) que expresan ectópicamente CD73 de ratón, monos cynomolgus o humano (de izquierda a derecha en la figura), medido por citometría de flujo. Los valores de la intensidad de fluorescencia

media (MFI, *por sus siglas en inglés*) se representan frente a las concentraciones de anticuerpos.

[0300] Las **Figuras 2A-2B** son un conjunto de gráficos que muestran el grado de inhibición de la actividad enzimática de CD73 por anticuerpos anti-CD73 (BA013, BA014, BA015 o RA001) o un control de isotipo (**Figura 2A**), o por un anticuerpo anti-CD73 BA015 o el control de isotipo (**Figura 2B**). El porcentaje de actividad de CD73 expresado ectópicamente en la superficie de células Jurkat (**Figura 2A**) o células CHO (**Figura 2B**) se representa como niveles de luminiscencia (medidos en unidades de luz relativa (RLU, *por sus siglas en inglés*)) en relación con los niveles observados en ausencia de anticuerpo.

[0301] Las **Figuras 3A-3C** son un conjunto de gráficos e imágenes que muestran la internalización de anticuerpos anti-CD73 y la internalización de CD73 mediada por anticuerpos. La **Figura 3A** muestra los resultados de un ensayo de citotoxicidad que mide la internalización de anticuerpos mediante la incubación de células que expresan CD73 con anticuerpos de prueba (BA015, RA001 o un segundo anticuerpo de referencia ("RA002")), control de isotipo o sin anticuerpo, y un anticuerpo secundario conjugado con monometil auristatina E citotóxica (MMAE, *por sus siglas en inglés*). Los niveles de internalización de anticuerpos se representan como la viabilidad de las células que expresan CD73 (normalizadas a la viabilidad de las células de control que no se trataron con ningún anticuerpo primario o secundario ("NT")) frente a la concentración de anticuerpos. La **Figura 3B** muestra una serie de imágenes representativas de un ensayo de internalización de CD73, en donde las células que expresan una proteína de fusión HaloTag®-CD73 se detectan mediante microscopía de fluorescencia confocal después de la incubación de las células con un ligando HaloTag® Alexa Fluor™ 488 que tiñe la proteína de fusión y tratamiento con anticuerpos anti-CD73 o de control. La **Figura 3C** es un gráfico que muestra la cuantificación de HaloTag®-CD73 intracelular a partir de cuatro imágenes adquiridas en el canal FITC (para detectar HaloTag® Alexa Fluor™ 488) cada hora para cada condición durante un curso de 6 horas.

[0302] Las **Figuras 4A-4P** son un conjunto de gráficos que muestran la unión de un control de isótopos, RA001, RA002, BA015 y anticuerpos anti-CD73 humanizados BA019-BA030 a células CHO que expresan ectópicamente CD73 de mono Cynomolgus, medido por citometría de flujo. Los valores de MFI se representan frente a las concentraciones de anticuerpos para mostrar las curvas de unión.

[0303] Las **Figuras 5A-5P** son un conjunto de gráficos que muestran la unión de un control de isótopos, RA001, RA002, BA015, y anticuerpos anti-CD73 humanizados BA019-BA030 a células CHO que expresan ectópicamente CD73 humana, medido por citometría de

flujo. Se usó un control negativo sin ningún anticuerpo, designado "sin anticuerpo", para la comparación en la **Figura 5A**. Los valores de MFI se representan frente a la concentración de anticuerpos para mostrar curvas vinculantes.

5 **[0304]** Las **Figuras 6A-6P** son un conjunto de gráficos que muestran el grado de inhibición de la actividad enzimática de CD73 por un control de isótopos, RA001, RA002, BA015 y anticuerpos anti-CD73 humanizados BA019-BA030. El porcentaje de actividad de CD73 expresado ectópicamente en la superficie de las células Jurkat se representa como niveles de luminiscencia (medidos en RLU) en relación con los niveles en ausencia de anticuerpo.

10 **[0305]** Las **Figuras 7A-7P** son un conjunto de gráficos que muestran el grado de inhibición de la actividad enzimática de CD73 por un control de isótopos, RA001, RA002, BA015 y anticuerpos anti-CD73 humanizados BA019-BA030. El porcentaje de actividad de CD73 recombinante inmovilizado se representa como niveles de luminiscencia (medidos en RLU) en relación con los niveles en ausencia de anticuerpo.

15 **[0306]** Las **Figuras 8A-8M** son un conjunto de gráficos que muestran los resultados de un ensayo de citotoxicidad que mide la internalización de anticuerpos incubando células que expresan CD73 sin anticuerpo, control de isótopos, BA015 o un anticuerpo anti-CD73 humanizado y un anticuerpo secundario conjugado con MMAE. Los niveles de internalización de anticuerpos se representan como la viabilidad de las células que expresan CD73 (normalizadas a la viabilidad de las células de control que no se trataron con ningún anticuerpo
20 primario o secundario ("NT")) frente a las concentraciones de anticuerpos.

[0307] Las **Figuras 9A-9E** son un conjunto de gráficos que muestran las capacidades de un anticuerpo anti-CD73 (BA012) o una proteína de fusión de trampa anti-CD73-TGF β (BA035), pero no de controles de isotipo (un control de anticuerpo de isotipo y un control de proteína de fusión que comprende dicho anticuerpo de isotipo y la trampa de TGF β), para
25 unirse a CD73 e inhibir la actividad enzimática de CD73. Las **Figuras 9A y 9B** muestran la unión de BA012 o BA035, pero no de controles de isotipo, a células CHO que expresan ectópicamente CD73 de ratón en ausencia (**Figura 9A**) o presencia (**Figura 9B**) de TGF β 1. Los niveles de unión, medidos por citometría de flujo, se representan como valores absolutos de MFI (**Figura 9A**) o como valores porcentuales de MFI con respecto al valor de MFI de cada
30 condición de prueba en ausencia de TGF β 1 (**Figura 9B**). Las **Figuras 9C-9E** muestran la inhibición de la actividad enzimática de CD73 por BA012 o BA035, pero no por el control de isotipo, en ausencia (**Figuras 9C y 9D**) o presencia (**Figura 9E**) de TGF β 1. El porcentaje de actividad de CD73 expresado ectópicamente en la superficie de las células CHO se representa

como niveles de luminiscencia (medidos en RLU) en relación con los niveles en ausencia de anticuerpo.

[0308] Las **Figuras 10A y 10B** son un conjunto de gráficos que muestran el antagonismo de la señalización inducida por TGF β por BA012 o BA035, pero no por controles de isotipo.

5 En la **Figura 10A**, los niveles de luminiscencia relativa, que se correlacionan con la expresión de luciferasa inducida por TGF β 1 en células informadoras HEK293-SMAD, se representan como valores porcentuales con respecto a los niveles de luminiscencia en ausencia de anticuerpo. En la **Figura 10B**, los niveles de expresión de la proteína roja fluorescente (RFP), que se correlacionan con la expresión de Vimentina inducida por TGF β 1 en células A549-
10 Vimentina-RFP, se representan como valores de fluorescencia absoluta menos los niveles de fluorescencia de fondo en ausencia de anticuerpo o TGF β 1.

[0309] Las **Figuras 11A y 11B** son un conjunto de gráficos que muestran la inhibición del crecimiento tumoral y la metástasis por anticuerpos anti-CD73 (un control de isótopos, BA012, y un anticuerpo de referencia que comprende el dominio variable de RA001 y un dominio
15 constante de IgG2a-N297A murina, designado RA001-IgG2a-N297A). La **Figura 11A** muestra los volúmenes tumorales calculados medios de 8-10 ratones/grupo implantados subcutáneamente con células tumorales CT26 y tratados con los anticuerpos indicados. La **Figura 11B** muestra el número de nódulos tumorales en los pulmones de cada ratón implantado intravenosamente con células tumorales EMT6 y tratados con BA012 o anticuerpo de control
20 de isotipo.

[0310] Las **Figuras 12A y 12B** son un conjunto de gráficos que muestran la inhibición del crecimiento tumoral por BA012, BA035 o controles de isotipo. La **Figura 12A** muestra los volúmenes tumorales calculados medios de 5-7 ratones/grupo implantados con células tumorales TC1 por vía subcutánea y tratados con los anticuerpos indicados. La **Figura 12B**
25 muestra los volúmenes tumorales calculados de 8-10 ratones/grupo implantados con células tumorales EMT6 por vía subcutánea y tratados con los anticuerpos indicados.

[0311] Las **Figuras 13A y 13B** son un conjunto de gráficos que muestran la unión de un anticuerpo anti-CD73 (BA025), una proteína de fusión de trampa anti-CD73-TGF β (BA037), un anticuerpo de control de isotipo o una trampa de isotipo-TGF β a células T CD8 $^{+}$ aisladas
30 de PBMC de humano (**Figura 13A**) o mono Cynomolgus (**Figura 13B**), medida por citometría de flujo. Los valores medios de MFI se representan frente a las concentraciones de anticuerpos.

[0312] Las **Figuras 14A-14D** son un conjunto de gráficos que muestran el grado de inhibición de la actividad enzimática CD73 humana recombinante en un ensayo bioquímico por un anticuerpo anti-CD73 (BA025), una proteína de fusión de trampa anti-CD73-TGF β

(BA037), un anticuerpo de control de isotipo, o una trampa de isotipo-TGF β . Se muestran los resultados de dos experimentos. La actividad de CD73 unida a placa inmovilizada (**Figuras 14A y 14B**) o CD73 soluble (**Figuras 14C y 14D**) se representa como niveles de luminiscencia (medidos en RLU) en relación con los niveles en ausencia de anticuerpos.

5 **[0313]** Las **Figuras 15A-15D** son un conjunto de gráficos que muestran el grado de inhibición de la actividad enzimática CD73 de mono Cynomolgus recombinante en un ensayo bioquímico por un anticuerpo anti-CD73 (BA025), una proteína de fusión de trampa anti-CD73-TGF β (BA037), un anticuerpo de control de isotipo o una trampa de isotipo-TGF β . Se muestran los resultados de dos experimentos. La actividad de CD73 unida a placa inmovilizada
10 (**Figuras 15A y 15B**) o CD73 soluble (**Figuras 15C y 15D**) se representa como niveles de luminiscencia (medidos en RLU) en relación con los niveles en ausencia de anticuerpo.

[0314] Las **Figuras 16A y 16B** son un conjunto de gráficos que muestran el grado de inhibición de la actividad enzimática de CD73 por un anticuerpo anti-CD73 (BA025), una proteína de fusión de trampa anti-CD73-TGF β (BA037), un anticuerpo de control de isotipo, o
15 una trampa de isotipo-TGF β . El porcentaje de actividad de CD73 expresado ectópicamente en la superficie de las células Jurkat en dos experimentos (**Figura 16A y Figura 16B**) se representa como niveles de luminiscencia (medidos en RLU) en relación con los niveles en ausencia de anticuerpo.

[0315] Las **Figuras 17A-17C** son un conjunto de gráficos que muestran el antagonismo
20 de la señalización inducida por TGF β en un ensayo indicador HEK293 SMAD-luciferasa mediante un anticuerpo anti-CD73 (BA025), una proteína de fusión de trampa anti-CD73-TGF β (BA037), un anticuerpo de control de isotipo, o una trampa de isotipo-TGF β . Cada isoforma de TGF β se analizó por separado. La actividad de señalización de SMAD inducida por TGF β (que se correlaciona con la actividad de luciferasa en las células HEK293-SMAD-
25 luciferasa) se representa como niveles de luminiscencia (medidos en RLU) en relación con los niveles en ausencia de anticuerpo.

[0316] Las **Figuras 18A-18I** son un conjunto de gráficos que muestran el antagonismo de la señalización inducida por TGF β en un ensayo de células informadoras A549-Vimentina-RFP mediante un anticuerpo anti-CD73 (BA025), una proteína de fusión de trampa anti-CD73-TGF β (BA037), un anticuerpo de control de isotipo o una trampa de isotipo-TGF β . Cada
30 isoforma de TGF β se analizó por separado. Se muestran los resultados de tres experimentos. Se realizaron dos experimentos (**Figuras 18A-18C y 18D-18F**) a temperatura ambiente. Un experimento (**Figuras 18G-18I**) se realizó a 37°C. La actividad de señalización inducida por

TGF β (que se correlaciona con la expresión de RFP en las células A549-Vimentina-RFP) se representa como MFI de RFP en relación con los niveles en ausencia de anticuerpo.

[0317] Las **Figuras 19A-19D** son un conjunto de gráficos que muestran la internalización de anticuerpos anti-CD73 y la internalización de CD73 mediada por anticuerpos. Los gráficos muestran los resultados de un ensayo de citotoxicidad que mide la internalización de anticuerpos mediante la incubación de células que expresan CD73 con un anticuerpo anti-CD73 (BA025), una proteína de fusión de trampa anti-CD73-TGF β (BA037), un anticuerpo de control de isotipo, o ningún anticuerpo, en cada caso junto con un anticuerpo secundario conjugado con el agente citotóxico DM1. Los niveles de internalización de anticuerpos se miden por muerte celular, que se indica mediante una pérdida de intensidad de fluorescencia (medida en RLU). Los datos se representan como el RLU de las células que expresan CD73 frente a la concentración de anticuerpos. Se muestran los datos de dos experimentos.

[0318] Las **Figuras 20A y 20B** son un conjunto de gráficos que muestran la capacidad de un anticuerpo anti-CD73 (BA025), una proteína de fusión de trampa anti-CD73-TGF β (BA037), un anticuerpo de control de isotipo, una trampa de isotipo-TGF β y una Fc-competente anti-CD73 para activar los receptores Fc γ R en las células Jurkat que contienen una construcción informadora de NFAT-luciferasa y que expresan Fc γ RIIA (H131) (**Figura 20A**) o Jurkat Fc γ RIIA (V158) (9), en cada caso en presencia de CHO células que expresan CD73. La activación del receptor Fc γ R se representa como niveles de luminiscencia (medidos en RLU) en relación con los niveles en ausencia de anticuerpo.

[0319] La **Figura 21** es un gráfico que muestra la inhibición de metástasis por BA035. El gráfico muestra el número de nódulos tumorales en los pulmones de cada ratón implantado intravenosamente con células tumorales EMT6 y tratado con BA012, BA035 o anticuerpo de control de isotipo.

[0320] La **Figura 22** es un gráfico que muestra la inhibición del crecimiento tumoral por BA012, BA035 o controles de isotipo. El gráfico muestra los volúmenes tumorales calculados medios de 5-7 ratones/grupo implantados con células tumorales LLC y tratados con los anticuerpos indicados.

[0321] La **Figura 23** es un gráfico que muestra la inhibición del crecimiento tumoral por BA012, BA035 o controles de isotipo. El gráfico muestra los volúmenes tumorales calculados medios de 8-10 ratones/grupo implantados con células tumorales Detroit562 por vía subcutánea y tratados con los anticuerpos indicados.

[0322] Las **Figuras 24A-24D** son un conjunto de gráficos que muestran la inhibición del crecimiento tumoral por BA012, BA035 o controles de isotipo, administrados solos o en

combinación con un anticuerpo anti-PD-1 o con doxorubicina. Los gráficos muestran los volúmenes tumorales calculados de 6-9 ratones/grupo implantados subcutáneamente con células tumorales EMT6 y tratados con los anticuerpos indicados. La **Figura 24A** muestra datos de ratones que no recibieron un tratamiento combinado. La **Figura 24B** muestra datos de ratones que recibieron anti-PD-1 además de los anticuerpos indicados. Las **Figuras 24C y 24D** muestran datos de ratones que recibieron doxorubicina además de los anticuerpos indicados. El gráfico de la **Figura 24D** muestra los mismos datos que el gráfico de la **Figura 24C**, excepto que se han eliminado los datos de control de isotipo y se ha vuelto a trazar el eje x para separar mejor los datos de los diferentes grupos de tratamiento.

- 10 **[0323]** La **Figura 25** es un gráfico que muestra la inhibición del crecimiento tumoral por BA012, BA035 o controles de isotipo en combinación con etopósido o por etopósido solo. El gráfico muestra los volúmenes tumorales calculados medios de 5-8 ratones/grupo implantados subcutáneamente con células tumorales CT26 y tratados con los anticuerpos indicados.

5. DESCRIPCIÓN DETALLADA

- 15 **[0324]** La presente divulgación proporciona anticuerpos que se unen específicamente a CD73 (*por ejemplo*, CD73 humana, CD73 de cynomolgus o CD73 de ratón) y antagonizan la función de CD73, *por ejemplo*, la actividad enzimática para promover la conversión de AMP en adenosina. También se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden estos anticuerpos, ácidos nucleicos que codifican estos anticuerpos, vectores de expresión y células huésped para producir estos anticuerpos, y métodos para tratar a un sujeto usando estos anticuerpos. Los anticuerpos descritos en el presente documento son particularmente útiles para estimular las respuestas inmunitarias a un antígeno tumoral y, por lo tanto, son útiles para tratar el cáncer en un sujeto. Todos los casos de "anticuerpos aislados" descritos en el presente documento se contemplan adicionalmente como anticuerpos que pueden aislarse, pero no es necesario que lo estén. Todos los casos de "polinucleótidos aislados" descritos en el presente documento se contemplan adicionalmente como polinucleótidos que pueden aislarse, pero no es necesario que lo estén. Todos los casos de "anticuerpos" descritos en este documento se contemplan adicionalmente como anticuerpos que pueden aislarse, pero no es necesario que lo estén. Todos los casos de "polinucleótidos" descritos en el presente documento se contemplan adicionalmente como polinucleótidos que pueden aislarse, pero no es necesario que lo estén.

5.1 Definiciones

[0325] Como se usa en este documento, los términos "alrededor" y "aproximadamente", cuando se usan para modificar un valor numérico o un rango numérico, indican que las desviaciones del 5% al 10% por encima (*por ejemplo*, hasta el 5% al 10% por encima) y del 5% al 10% por debajo (*por ejemplo*, hasta del 5% al 10% por debajo) el valor o rango permanecen dentro del significado pretendido del valor o rango mencionado.

[0326] Como se usa en este documento, el término "CD73" (también conocido como ecto-5'-nucleotidasa, ecto-5'-NT, 5'-NT y *NT5E*) se refiere a una proteína que en humanos está codificada por el gen *NT5E*. Como se usa en este documento, el término "CD73 humana" se refiere a una proteína CD73 codificada por un gen *NT5E* humano (*por ejemplo*, un gen *NT5E* humano de tipo salvaje) o un dominio extracelular de dicha proteína. Las proteínas CD73 humanas de tipo salvaje ejemplares se proporcionan mediante los números de acceso de GenBank TM NP_002517.1, NP_001191742.1, AAH65937 y EAW48635. Para esta definición y las definiciones de otras proteínas en la presente, el experto en la materia apreciará que una proteína codificada por un gen puede estar en su forma madura, *por ejemplo*, con su péptido de señalización eliminado. Se proporcionan secuencias de aminoácidos ejemplares de una proteína CD73 humana inmadura como SEQ ID NO.: 99, 100, 129 y 130. Se proporcionan secuencias de aminoácidos ejemplares de una proteína CD73 humana madura como residuos de aminoácidos Trp27-Gln574 de SEQ ID NO.: 99 y residuos de aminoácidos Trp27-Gln524 de SEQ ID NO.: 100. Se proporcionan secuencias de aminoácidos ejemplares de un dominio extracelular de una proteína CD73 humana madura como residuos de aminoácidos Trp27-Lys547 de SEQ ID NO.: 99 y Trp27-Lys497 de SEQ ID NO.: 100.

[0327] Como se usa en el presente documento, los términos "factor de crecimiento transformante beta" y "TGFβ" se refieren a cualquiera de las proteínas de la familia TGFβ que en humanos están codificadas por los genes *TGFB1*, *TGFB2* y *TGFB3*. Como se usa en este documento, el término "TGFβ1 humano" se refiere a una proteína TGFβ1 codificada por un gen *TGFB1* humano (*por ejemplo*, un gen *TGFB1* humano de tipo salvaje). El número de acceso NP_000651.3 del GenBank TM proporciona una proteína TGFβ1 humana de tipo salvaje ejemplar. Como se usa en este documento, el término "TGFβ2 humano" se refiere a una proteína TGFβ2 codificada por un gen *TGFB2* humano (*por ejemplo*, un gen *TGFB2* humano de tipo salvaje). Las proteínas TGFβ2 humanas de tipo salvaje ejemplares se proporcionan mediante los números de acceso de GenBank TM NP_001129071.1 y NP_003229.1. Como se usa en este documento, el término "TGFβ3 humano" se refiere a una proteína TGFβ3 codificada por un gen *TGFB3* humano (*por ejemplo*, un gen *TGFB3* humano de tipo salvaje). Las proteínas

TGFβ3 humanas de tipo salvaje ejemplares se proporcionan mediante los números de acceso de GenBank™ NP_003230.1, NP_001316868.1 y NP_001316867.1.

[0328] Como se usa en este documento, los términos "receptor del factor de crecimiento transformante beta " y "receptor de TGFβ" se refieren a cualquiera de las proteínas de la familia de receptores TGFβ que en humanos están codificadas por los genes *TGFBRI*, *TGFBRI2* y *TGFBRI3*. Como se usa en este documento, el término "TGFβR1 humano" se refiere a una proteína TGFβR1 codificada por un gen *TGFBRI* humano (*por ejemplo*, un gen *TGFBRI* humano de tipo salvaje). Las proteínas TGFβR1 humanas de tipo salvaje ejemplares se proporcionan mediante los números de acceso de GenBank™ NP_004603.1, NP_001124388.1 y NP_001293139.1. Como se usa en este documento, el término "TGFβ2 humano" se refiere a una proteína TGFβ2 codificada por un gen *TGFB2* humano (*por ejemplo*, un gen *TGFB2* humano de tipo salvaje). Las proteínas TGFβ2 humanas de tipo salvaje ejemplares se proporcionan mediante los números de acceso de GenBank™ NP_001129071.1 y NP_003229.1. Como se usa en este documento, el término "TGFβ3 humano" se refiere a una proteína TGFβ3 codificada por un gen *TGFB3* humano (*por ejemplo*, un gen *TGFB3* humano de tipo salvaje). Las proteínas TGFβ3 humanas de tipo salvaje ejemplares se proporcionan mediante los números de acceso de GenBank™ NP_003230.1, NP_001316868.1 y NP_001316867.1.

[0329] Como se usa en el presente documento, los términos "factor de crecimiento endotelial vascular" y "VEGF" se refieren a cualquiera de las proteínas de la familia VEGF que en humanos están codificadas por los genes *VEGFA*, *VEGFB*, *VEGFC* y *VEGFD*. Como se usa en el presente documento, el término "VEGF-A humano" se refiere a una proteína VEGF-A codificada por un gen *VEGFA* humano (*por ejemplo*, un gen *VEGFA* humano de tipo salvaje). Las proteínas VEGF-A humanas de tipo salvaje ejemplares son proporcionadas por los números de acceso de GenBank™ NP_001020537.2, NP_001020538.2, NP_001020539.2, NP_001020540.2, NP_001020541.2, NP_001028928.1, NP_001165093.1, NP_001165094.1, NP_001165095.1, NP_001165096.1, NP_001165097.1, NP_001165098.1, NP_001165099.1, NP_001165100.1, NP_001165101.1, NP_001191313.1, NP_001191314.1, NP_001273973.1, NP_001303939.1, y NP_003367.4. Como se usa en este documento, el término "VEGF-B humano" se refiere a una proteína VEGF-B codificada por un gen *VEGFB* humano (*por ejemplo*, un gen *VEGFB* humano de tipo salvaje). Las proteínas VEGF-B humanas de tipo salvaje ejemplares se proporcionan mediante los números de acceso de GenBank™ NP_001230662.1 y NP_003368.1. Como se usa en este documento, el término "VEGF-C humano" se refiere a una proteína VEGF-C codificada por un gen *VEGFC* humano (*por*

ejemplo, un gen *VEGFC* humano de tipo salvaje). Las proteínas VEGF-C humanas de tipo salvaje ejemplares se proporcionan mediante el número de acceso de GenBank TM NP_005420.1. Como se usa en el presente documento, el término "VEGF-D humano" se refiere a una proteína VEGF-D codificada por un gen *VEGFD* humano (*por ejemplo*, un gen *VEGFD* humano de tipo salvaje). Las proteínas VEGF-D humanas de tipo salvaje ejemplares se proporcionan mediante el número de acceso de GenBank TM NP_004460.1.

[0330] Como se usa en este documento, los términos "receptor del factor de crecimiento endotelial vascular" y "VEGFR" se refieren a cualquiera de las proteínas de la familia de receptores de VEGF que en humanos están codificadas por genes *FLT1* (también conocido como *VEGFR1*, K_DR (también conocido como *VEGFR2*), y *FLT4* (también conocido como *VEGFR3*). Como se usa en este documento, el término "VEGFR1 humano" se refiere a una proteína VEGFR1 codificada por un gen *FLT1* humano (*por ejemplo*, un gen *FLT1* de tipo salvaje). Proteínas VEGFR1 humano de tipo salvaje ejemplares son proporcionados por GenBankTM números de acceso NP_002010.2, NP_001153392.1, NP_001153502.1 y NP_001153503.1. Como se usa en este documento, el término "VEGFR2 humano" se refiere a una proteína VEGFR2 codificada por un gen K_DR humano (*por ejemplo*, un gen K_DR humano de tipo). Una proteína VEGFR2 humana de tipo salvaje ejemplar es proporcionada por GenBank TM número de acceso NP_002244.1. Como se usa en este documento, el término "VEGFR3 humano" se refiere a una proteína VEGFR3 codificada por un gen *FLT4* humano (*por ejemplo*, un gen *FLT4* humano de tipo salvaje). Las proteínas VEGFR3 humanas de tipo salvaje ejemplares se proporcionan mediante los números de acceso de GenBank TM NP_891555.2, NP_002011.2 y NP_001341918.1.

[0331] Como se usa en este documento, los términos "anticuerpo" y "anticuerpos" incluyen anticuerpos de longitud completa, fragmentos de unión a antígeno de anticuerpos de longitud completa y moléculas que comprenden CDR de anticuerpos, regiones VH y/o regiones VL. Los ejemplos de anticuerpos incluyen, sin limitación, anticuerpos monoclonales, anticuerpos producidos de forma recombinante, anticuerpos monoespecíficos, anticuerpos multiespecíficos (incluidos anticuerpos biespecíficos), anticuerpos humanos, anticuerpos humanizados, anticuerpos quiméricos, inmunoglobulinas, anticuerpos sintéticos, anticuerpos tetraméricos que comprenden dos moléculas de cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, un monómero de cadena ligera de anticuerpo, un monómero de cadena pesada de anticuerpo, un dímero de cadena ligera de anticuerpo, un dímero de cadena pesada de anticuerpo, un par de cadena ligera de anticuerpo-cadena pesada de anticuerpo, intracuerpos, anticuerpos heteroconjugados, conjugados anticuerpo-fármaco, anticuerpos de dominio único, anticuerpos

monovalentes, anticuerpos monocatenarios o Fvs monocatenarios (scFv), anticuerpos camelizados, aficuerpos, fragmentos Fab, fragmentos F (ab')₂, Fvs unidos por disulfuro (sdFv), anticuerpos antiidiotípicos (anti-Id) (incluidos, *por ejemplo*, anticuerpos anti-anti-Id), y fragmentos de unión a antígeno de cualquiera de los anteriores, y conjugados o proteínas de fusión que comprenden cualquier de los anteriores. En determinadas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento se refieren a poblaciones de anticuerpos policlonales. Los anticuerpos pueden ser de cualquier tipo (*por ejemplo*, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA o IgY), de cualquier clase (*por ejemplo*, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ o IgA₂) o de cualquier subclase (*por ejemplo*, IgG_{2a} o IgG_{2b}) de la molécula de inmunoglobulina. En determinadas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento son anticuerpos IgG, o una clase (*por ejemplo*, IgG₁ o IgG humana) o subclase de los mismos. En una realización específica, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal humanizado. En otra realización específica, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal humano. En ciertas realizaciones, un anticuerpo, como se describe en el presente documento, comprende un anticuerpo de longitud completa (*por ejemplo*, un anticuerpo de longitud completa que se une específicamente a CD73), o un fragmento de unión a antígeno del mismo, unido a una fracción de unión de ligando que se une específicamente a una molécula distinta de CD73 (*por ejemplo*, una fracción de unión a ligando que se une específicamente a TGFβ o VEGF, *por ejemplo*, una fracción de unión a ligando que comprende uno o más ectodominios de un receptor de TGFβ o receptor de VEGF).

[0332] Como se usa en este documento, los términos "región VH" y "región VL" se refieren, respectivamente, a regiones variables de cadena pesada y ligera de un solo anticuerpo, que comprenden FR (regiones de entramado) 1, 2, 3 y 4 y CDR (regiones determinantes de complementariedad) 1, 2 y 3 (ver Kabat *et al.*, (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest (Publicación NIH No. 91-3242, Bethesda), que se incorpora aquí como referencia en su totalidad).

[0333] Como se usa en este documento, el término "CDR" o "región determinante de complementariedad" significa los sitios de combinación de antígeno no contiguos que se encuentran dentro de la región variable de polipéptidos de cadena pesada y ligera. Estas regiones particulares han sido descritas por Kabat *et al.*, J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977) y Kabat *et al.*, Sequences of protein of immunological interest. (1991), by Chothia *et al.*, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987), y por MacCallum *et al.*, J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996), todos los cuales se incorporan aquí como referencia en su totalidad, donde las definiciones incluyen superposiciones o subconjuntos de residuos de aminoácidos cuando se comparan entre

sí. En determinadas realizaciones, el término "CDR" es una CDR como la definen MacCallum *et al.*, J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996) y Martin A. "Protein Sequence y Structure Analysis of Antibody Variable Domains," en *Antibody Engineering*, Kontermann y Dübel, eds., Capítulo 31, pp. 422-439, Springer-Verlag, Berlin (2001). En determinadas realizaciones, el término

5 "CDR" es una CDR como la definen Kabat *et al.*, J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977) y Kabat *et al.*, Sequences of protein of immunological interest. (1991). En determinadas realizaciones, las CDR de cadena pesada y las CDR de cadena ligera de un anticuerpo se definen usando diferentes convenciones. En ciertas realizaciones, las CDR de cadena pesada y/o las CDR de cadena ligera se definen realizando un análisis estructural de un anticuerpo e

10 identificando residuos en la región o regiones variables que se prevé que hagan contacto con una región de epítipo de una molécula diana (*por ejemplo*, CD73 humana y/o de mono Cynomolgus). CDRH1, CDRH2 y CDRH3 denotan las CDR de cadena pesada, y CDRL1, CDRL2 y CDRL3 denotan las CDR de cadena ligera.

[0334] Como se usa en este documento, el término "residuos de aminoácidos de entramado (FR)" se refiere a aquellos aminoácidos en la región de entramado de una región variable de anticuerpo. El término "región de entramado" o "región FR" como se usa en este documento, incluye los residuos de aminoácidos que son parte de la región variable, pero no son parte de las CDR (*por ejemplo*, usando la definición de CDR de Kabat o MacCallum).

15

[0335] Como se usa en este documento, los términos "región variable" y "dominio variable" se usan indistintamente y son comunes en la técnica. La región variable se refiere típicamente a una porción de un anticuerpo, generalmente, una porción de una cadena ligera o pesada, típicamente alrededor de los 110 a 120 aminoácidos del extremo amino o de 110 a 125 aminoácidos en la cadena pesada madura y alrededor de 90 a 115 aminoácidos en la cadena ligera madura, que difieren ampliamente en la secuencia entre los anticuerpos y se usan en la

20 unión y especificidad de un anticuerpo particular por su antígeno particular. La variabilidad en la secuencia se concentra en aquellas regiones llamadas regiones determinantes de complementariedad (CDR) mientras que las regiones más altamente conservadas en el dominio variable se denominan regiones de entramado (FR). Sin desear estar ligado a ningún mecanismo o teoría particular, se cree que las CDR de las cadenas ligera y pesada son las

25 principales responsables de la interacción y especificidad del anticuerpo con el antígeno. En determinadas realizaciones, la región variable es una región variable humana. En determinadas realizaciones, la región variable comprende CDR de roedor o murino y regiones de entramado humana (FR). En realizaciones particulares, la región variable es una región variable de primates (*por ejemplo*, primates no humanos). En determinadas realizaciones, la región

30

variable comprende CDR de roedor o murino y regiones de entramado (FR) de primates (*por ejemplo*, primates no humanos).

[0336] Los términos "VL" y "dominio VL" se usan indistintamente para referirse a la región variable de la cadena ligera de un anticuerpo.

5 **[0337]** Los términos "VH" y "dominio VH" se usan indistintamente para referirse a la región variable de la cadena pesada de un anticuerpo.

[0338] Como se usa en este documento, los términos "región constante" y "dominio constante" son intercambiables y son comunes en la técnica. La región constante es una porción de anticuerpo, *por ejemplo*, una porción carboxilo terminal de una cadena ligera y/o pesada que no está directamente involucrada en la unión de un anticuerpo al antígeno pero que puede exhibir varias funciones efectoras, como la interacción con un receptor Fc (*por ejemplo*, receptor Fc gamma). La región constante de una molécula de inmunoglobulina generalmente tiene una secuencia de aminoácidos más conservada en relación con un dominio variable de inmunoglobulina.

15 **[0339]** Como se usa en este documento, el término "cadena pesada" cuando se usa en referencia a un anticuerpo puede referirse a cualquier tipo distinto, *por ejemplo*, alfa (α), delta (δ), épsilon (ϵ), gamma (γ) y mu (μ), basado en la secuencia de aminoácidos del dominio constante, que dan lugar a las clases IgA, IgD, IgE, IgG e IgM de anticuerpos, respectivamente, incluidas subclases de IgG, *por ejemplo*, IgG₁, IgG₂, IgG₃, y IgG₄.

20 **[0340]** Como se usa en este documento, el término "cadena ligera" cuando se usa en referencia a un anticuerpo puede referirse a cualquier tipo distinto, *por ejemplo*, kappa (κ) o lambda (λ) basado en la secuencia de aminoácidos de los dominios constantes. Las secuencias de aminoácidos de cadena ligera son bien conocidas en la técnica. En realizaciones específicas, la cadena ligera es una cadena ligera humana.

25 **[0341]** Como se usa en este documento, el término "sistema de numeración de la UE" se refiere a la convención de numeración de la UE para las regiones constantes de un anticuerpo, como se describe en Edelman, G.M. *et al.*, Proc. Natl. Acad. USA, 63, 78-85 (1969) y Kabat *et al*, Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Dept. Health y Human Services, 5th edition, 1991, cada uno de los cuales se incorpora aquí como referencia en su totalidad.

30 **[0342]** Como se usa en el presente documento, el término "fracción de unión" se refiere a una fracción que tiene la capacidad de unirse específicamente a una molécula o complejo diana. La fracción de unión puede comprender una molécula pequeña, péptido, péptido modificado (*por ejemplo*, péptidos que tienen residuos de aminoácidos no naturales y/o péptidos grapados), polipéptido, proteína, anticuerpo, fragmento de anticuerpo, scFv, polipéptido que contiene Fc,

anticuerpo de fusión, ligando, aptámero, ácido nucleico, variantes de los mismos o cualquier combinación de los mismos. En determinadas realizaciones, la fracción de unión comprende un dominio de una proteína natural o una variante de la misma, en donde la proteína natural se une a la molécula o complejo diana a través del dominio. Por ejemplo, el término "fracción de unión a TGF β " se refiere a una fracción que se une específicamente a una o más proteínas de la familia de TGF β (*por ejemplo*, TGF β 1, TGF β 2 o TGF β 3), y en determinadas realizaciones puede comprender un dominio extracelular de un TGF β receptor (*por ejemplo*, TGF β R1, TGF β R2 o TGF β R3). El término "fracción de unión a VEGF" se refiere a una fracción que se une específicamente a una o más proteínas de la familia VEGF (*por ejemplo*, VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C o VEGF-D), y en determinadas realizaciones puede comprender un dominio extracelular de un receptor de VEGF (*por ejemplo*, VEGFR1, VEGFR2 o VEGFR3).

[0343] La "afinidad de unión" generalmente se refiere a la fuerza de la suma total de interacciones no covalentes entre un único sitio de unión de una molécula (*por ejemplo*, un anticuerpo) y su pareja de unión (*por ejemplo*, un antígeno). A menos que se indique lo contrario, como se usa en este documento, "afinidad de unión" se refiere a afinidad de unión intrínseca que refleja una interacción 1:1 entre miembros de un par de unión (*por ejemplo*, anticuerpo y antígeno). La afinidad de una molécula X por su pareja Y generalmente se puede representar mediante la constante de disociación (K_D , *por sus siglas en inglés*). La afinidad se puede medir y/o expresar de varias formas conocidas en la técnica, que incluyen, pero no se limitan a, constante de disociación de equilibrio (K_D) y constante de asociación de equilibrio (K_A). La K_D se calcula a partir del cociente de k_{off}/k_{on} , mientras que K_A se calcula a partir del cociente de k_{on}/k_{off} . k_{on} se refiere a la constante de velocidad de asociación de, *por ejemplo*, un anticuerpo a un antígeno, y k_{off} se refiere a la constante de velocidad de disociación de, *por ejemplo*, un anticuerpo a un antígeno. El k_{on} y k_{off} se pueden determinar mediante técnicas conocidas por un experto en la técnica, tales como BIAcore® o KinExA. Como se usa en este documento, una "afinidad menor" se refiere a un K_D más grande.

[0344] Como se usa en este documento, el término "unión máxima" se refiere a la señal máxima (expresada en unidades de resonancia (RU)) observada para la unión de un antígeno (*por ejemplo*, una proteína CD73) a una concentración dada a un anticuerpo (*por ejemplo*, un anticuerpo anti-CD73) en un ensayo de unión por resonancia de plasmón superficial (*por ejemplo*, un ensayo de unión por resonancia de plasmón superficial descrito en la sección 6.5.2 de este documento).

[0345] Como se usa en este documento en el contexto de la afinidad de unión, la afinidad de unión de un anticuerpo de prueba por un primer antígeno se "reduce sustancialmente" en

relación con la afinidad de unión del anticuerpo de prueba por un segundo antígeno si la afinidad de unión del anticuerpo de prueba por el primer antígeno se reduce por lo menos en un 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% o 90% en relación con la afinidad de unión del anticuerpo de prueba por el segundo antígeno, *por ejemplo*, en un experimento dado, o usando valores medios de múltiples experimentos, evaluados por, *por ejemplo*, un ensayo de afinidad de unión descrito en este documento. Como se usa en el presente documento en el contexto de unión máxima, la unión entre un anticuerpo de prueba y un primer antígeno se "reduce sustancialmente" en relación con la unión máxima entre el anticuerpo de prueba y un segundo antígeno si la unión máxima entre el anticuerpo de prueba y el primer antígeno se reduce por lo menos en un 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% o 90% en relación con la unión máxima entre el anticuerpo de prueba y el segundo antígeno, *por ejemplo*, en un experimento dado, o usando valores medios a partir de múltiples experimentos, según lo evaluado, *por ejemplo*, mediante un ensayo de unión descrito en el presente documento.

[0346] Como se usa en este documento, los términos "se une específicamente", "reconoce específicamente", "se une inmunoespecíficamente" y "reconoce inmunoespecíficamente" son términos análogos en el contexto de anticuerpos y se refieren a moléculas que se unen a un antígeno (*por ejemplo*, epítipo o complejo inmune) como tal unión es entendida por un experto en la técnica. Por ejemplo, una molécula que se une específicamente a un antígeno puede unirse a otros péptidos o polipéptidos, generalmente con menor afinidad determinada por, *por ejemplo*, inmunoensayos, BIAcore®, instrumento KinExA 3000 (Sapidyne Instruments, Boise, ID) u otros ensayos conocidos en la técnica. En una realización específica, las moléculas que se unen específicamente a un antígeno se unen al antígeno con un K_A de al menos 2 logaritmos (*por ejemplo*, factores de 10), 2,5 logaritmos, 3 logaritmos, 4 logaritmos o más que el K_A cuando las moléculas se unen no específicamente a otro antígeno. El experto en la materia apreciará que un anticuerpo, como se describe en el presente documento, puede unirse específicamente a más de un antígeno (*por ejemplo*, a través de diferentes regiones de la molécula de anticuerpo). Por ejemplo, un anticuerpo, como se describe en el presente documento, puede unirse específicamente a CD73 y TGF β o unirse específicamente a CD73 y VEGF.

[0347] Como se usa en este documento, el término "cadena de inmunoglobulina" se refiere a un polipéptido de un anticuerpo que comprende un anticuerpo VH o VL, o un fragmento de unión a antígeno del mismo. Una cadena de inmunoglobulina puede comprender, *por ejemplo*, un VH, un VL, una cadena pesada de anticuerpo de longitud completa, una cadena ligera de

anticuerpo de longitud completa o un fragmento de unión a antígeno de cualquiera de los anteriores.

[0348] Como se usa en este documento, el término "unido a" se refiere a la unión covalente o no covalente entre dos moléculas o restos. El experto en la materia apreciará que cuando una primera molécula o resto se une a una segunda molécula o resto, no es necesario que el enlace sea directo, sino que puede ser a través de una molécula o resto intermedio. Por ejemplo, cuando una región variable de cadena pesada de un anticuerpo de longitud completa se une a una fracción de unión a ligando, la fracción de unión a ligando puede unirse a una región constante (*por ejemplo*, una región constante de cadena pesada) del anticuerpo de longitud completa (*por ejemplo*, a través de un enlace peptídico), en lugar de unirse directamente a la región variable de la cadena pesada.

[0349] En otra realización específica, las moléculas que se unen específicamente a un antígeno no reaccionan de forma cruzada con otras proteínas en condiciones de unión similares. En otra realización específica, las moléculas que se unen específicamente a CD73 no reaccionan de forma cruzada con otras proteínas distintas de CD73. En una realización específica, aquí se proporciona un anticuerpo que se une a CD73 (*por ejemplo*, CD73 humana) con mayor afinidad que a otro antígeno no relacionado. En determinadas realizaciones, se proporciona aquí un anticuerpo que se une a CD73 (*por ejemplo*, CD73 humana) con un 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o mayor afinidad que con otro antígeno no relacionado medido, *por ejemplo*, mediante un radioinmunoensayo, resonancia de plasmón superficial o ensayo de exclusión cinética. En una realización específica, el grado de unión de un anticuerpo anti-CD73 descrito en el presente documento a una proteína no CD73 no relacionada es menos del 10%, 15% o 20% de la unión del anticuerpo a la proteína CD73 medida por, *por ejemplo*, un radioinmunoensayo.

[0350] Como se usa en el presente documento, un "epítipo" es un término en la técnica y se refiere a una región localizada de un antígeno a la que un anticuerpo puede unirse específicamente. Un epítipo puede ser, *por ejemplo*, aminoácidos contiguos de un polipéptido (epítipo lineal o contiguo) o un epítipo puede, *por ejemplo*, venir juntos de dos o más regiones no contiguas de un polipéptido o polipéptidos (conformacional, no lineal, epítipo discontinuo o no contiguo). En determinadas realizaciones, el epítipo al que se une un anticuerpo se puede determinar mediante, *por ejemplo*, espectroscopia de RMN, estudios de cristalografía de difracción de rayos X, ensayos de ELISA, intercambio de hidrógeno/deuterio acoplado con espectrometría de masas (*por ejemplo*, espectrometría de masas por electrospray de cromatografía líquida), análisis de barrido de oligopéptidos basados en matrices (*por ejemplo*,

péptidos restrictivos usando CLIPS (*Chemical Linkage of Peptides onto Scaffolds*) para mapear epítomos discontinuos o conformacionales) y/o mapeo de mutagénesis (*por ejemplo*, mapeo de mutagénesis dirigida al sitio). Para la cristalografía de rayos X, la cristalización se puede lograr usando cualquiera de los métodos conocidos en la técnica (*por ejemplo*, Giegé R *et al.*, (1994) 5 Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 50(Pt 4): 339-350; McPherson A (1990) Eur J Biochem 189: 1-23; Chayen NE (1997) Structure 5: 1269-1274; McPherson A (1976) J Biol Chem 251: 6300-6303, cada uno de los cuales se incorpora aquí como referencia en su totalidad). Cristales de anticuerpo:antígeno se pueden estudiar usando técnicas de difracción de rayos X bien conocidas y se pueden refinar usando software de computadora como X-PLOR (Universidad 10 de Yale, 1992, distribuido por Molecular Simulations, Inc.; ver, *por ejemplo*, Meth Enzymol (1985) volumes 114 & 115, eds Wyckoff HW *et al.*; U.S. 2004/0014194), y BUSTER (Bricogne G (1993) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 49(Pt 1): 37-60; Bricogne G (1997) Meth Enzymol 276A: 361-423, ed Carter CW; Roversi P *et al.*, (2000) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 56(Pt 10): 1316-1323), cada uno de los cuales se incorpora aquí como referencia 15 en su totalidad. Los estudios de mapeo de mutagénesis se pueden realizar utilizando cualquier método conocido por un experto en la materia. Véase, *por ejemplo*, Champe M *et al.*, (1995) J Biol Chem 270: 1388-1394 y Cunningham BC & Wells JA (1989) Science 244: 1081-1085, cada uno de los cuales se incorpora aquí como referencia en su totalidad, para una descripción de las técnicas de mutagénesis, incluidas las técnicas de mutagénesis de exploración con alanina. CLIPS (*Chemical Linkage of Peptides onto Scaffolds*) es una tecnología para presentar 20 uno o más péptidos en una configuración restringida estructuralmente para comportarse como imitaciones funcionales de dominios proteicos complejos. Véanse, *por ejemplo*, las publicaciones de EE.UU. US 2008/0139407 A1 y US 2007/099240 A1, y Patente de EE.UU. No. 7,972,993, cada una de las cuales se incorpora aquí como referencia en su totalidad. En 25 una realización específica, el epítomo de un anticuerpo se determina usando estudios de mutagénesis de barrido de alanina. En una realización específica, el epítomo de un anticuerpo se determina usando intercambio de hidrógeno/deuterio acoplado con espectrometría de masas. En una realización específica, el epítomo de un anticuerpo se determina usando la tecnología de mapeo de epítomos CLIPS de Pepscan Therapeutics. En una realización específica, el 30 epítomo de un anticuerpo se determina mediante mutagénesis de proteínas, *por ejemplo*, generando mutantes de cambio de un antígeno con porciones de su ortólogo de otra especie y luego probando los mutantes de cambio para la pérdida de unión del anticuerpo (*por ejemplo*, Mediante un ensayo de unión celular basado en FACS, como se describe en este documento).

[0351] Como se usa en este documento, el término "un epítopo ubicado dentro" de una región de CD73 humana se refiere a un epítopo que comprende uno o más de los residuos de aminoácidos de la región especificada. En ciertas realizaciones, el epítopo comprende cada uno de los residuos de aminoácidos ubicados dentro de la región especificada. En ciertas realizaciones, el epítopo consiste en cada uno de los residuos de aminoácidos ubicados dentro de la región especificada. En ciertas realizaciones, uno o más residuos de aminoácidos adicionales de CD73 humana fuera de la región especificada se unen a un anticuerpo junto con un epítopo ubicado dentro de la región especificada.

[0352] Como se usa en este documento, los términos "receptor de células T" y "TCR" se usan indistintamente y se refieren a TCR $\alpha\beta$ o $\gamma\delta$ heterodiméricos de longitud completa, fragmentos de unión a antígeno de TCR de longitud completa y moléculas que comprenden CDR de TCR o regiones variables. Los ejemplos de TCR incluyen, pero no se limitan a, TCR de longitud completa, fragmentos de unión a antígeno de TCR de longitud completa, TCR solubles que carecen de regiones transmembrana y citoplasmática, TCR de cadena sencilla que contienen regiones variables de TCR unidas por un enlazador flexible, cadenas de TCR unidas por un enlace disulfuro diseñado, TCR monoespecíficos, TCR multiespecíficos (incluidos TCR biespecíficos), fusiones de TCR, TCR humanos, TCR humanizados, TCR quiméricos, TCR producidos de forma recombinante y TCR sintéticos. El término abarca TCR de tipo salvaje y TCR modificados genéticamente (*por ejemplo*, un TCR quimérico que comprende una cadena de TCR quimérica que incluye una primera porción de un TCR de una primera especie y una segunda porción de un TCR de una segunda especie).

[0353] Como se usa en este documento, los términos "complejo principal de histocompatibilidad" y "MHC" se usan indistintamente y se refieren a una molécula de MHC de clase I y/o una molécula de MHC de clase II.

[0354] Como se usa en este documento, el término "complejo péptido-MHC" se refiere a una molécula de MHC (MHC de clase I o MHC de clase II) con un péptido unido en el bolsillo de unión de péptido del MHC reconocido en la técnica.

[0355] Como se usa en este documento, el término "tratar", "tratado" y "tratamiento" se refieren a medidas terapéuticas o preventivas descritas en este documento. Los métodos de "tratamiento" emplean la administración de un anticuerpo a un sujeto que tiene una enfermedad o trastorno, o que está predispuesto a tener dicha enfermedad o trastorno, para prevenir, curar, retrasar, reducir la gravedad o mejorar uno o más síntomas de la enfermedad o trastorno o enfermedad o trastorno recurrente, o para prolongar la supervivencia de un sujeto más allá de lo esperado en ausencia de tal tratamiento.

[0356] Como se usa en este documento, el término "cantidad eficaz" en el contexto de la administración de una terapia a un sujeto se refiere a la cantidad de una terapia que logra un efecto profiláctico o terapéutico deseado.

[0357] Como se usa en este documento, el término "sujeto" incluye cualquier humano o animal o humano. En una realización, el sujeto es un mamífero humano o no humano. En una realización, el sujeto es un ser humano.

[0358] La determinación del "porcentaje de identidad" entre dos secuencias (*por ejemplo*, secuencias de aminoácidos o secuencias de ácidos nucleicos) se puede lograr usando un algoritmo matemático. Un ejemplo específico y no limitativo de un algoritmo matemático utilizado para la comparación de dos secuencias es el algoritmo de Karlin S & Altschul SF (1990) PNAS 87:2264-2268, modificado como en Karlin S & Altschul SF (1993) PNAS 90:5873-5877, cada uno de los cuales se incorpora aquí como referencia en su totalidad. Dicho algoritmo se incorpora a los programas NBLAST y XBLAST de Altschul SF *et al.*, (1990) J Mol Biol 215:403, que se incorpora aquí como referencia en su totalidad. Se pueden realizar búsquedas de nucleótidos BLAST con el conjunto de parámetros del programa de nucleótidos NBLAST, *por ejemplo*, para puntuación = 100, longitud de palabra = 12 para obtener secuencias de nucleótidos homólogas a las moléculas de ácido nucleico descritas en el presente documento. Las búsquedas de proteínas BLAST pueden realizarse con el conjunto de parámetros del programa XBLAST, *por ejemplo*, para marcar 50, longitud de palabra = 3 para obtener secuencias de aminoácidos homólogas a una molécula de proteína descritos en el presente documento. Para obtener alineaciones con espacios con fines de comparación, Gapped BLAST se puede utilizar como se describe en Altschul SF *et al.*, (1997) Nuc Acids Res 25: 3389-3402, que se incorpora aquí como referencia en su totalidad. Alternativamente, se puede usar PSI BLAST para realizar una búsqueda iterada que detecta relaciones distantes entre moléculas (Id.). Cuando se utilizan los programas BLAST, Gapped BLAST y PSI Blast, se pueden utilizar los parámetros predeterminados de los programas respectivos (*por ejemplo*, de XBLAST y NBLAST) (consulte, *por ejemplo*, el National Center for Biotechnology Information (NCBI) en la web mundial, ncbi.nlm.nih.gov). Otro ejemplo específico, no limitante de un algoritmo matemático utilizado para la comparación de secuencias es el algoritmo de Myers y Miller, 1988, CABIOS 4:11-17, que se incorpora aquí como referencia en su totalidad. Dicho algoritmo está incorporado en el programa ALIGN (versión 2.0) que forma parte del paquete de software de alineación de secuencias GCG. Cuando se utiliza el programa ALIGN para comparar secuencias de aminoácidos, se puede utilizar una tabla de

residuos de peso de PAM120, una penalización de longitud de espacio de 12 y una penalización de espacio de 4.

[0359] El porcentaje de identidad entre dos secuencias se puede determinar usando técnicas similares a las descritas anteriormente, con o sin espacios permitidos. Al calcular el porcentaje de identidad, normalmente solo se cuentan las coincidencias exactas.

[0360] Como se usa en este documento, el término "nanopartícula lipídica" se refiere a una o más nanopartículas esféricas con un diámetro promedio de entre aproximadamente 10 y aproximadamente 1000 nanómetros, y que comprenden una matriz de núcleo lipídico sólido que puede solubilizar moléculas lipófilas. En determinadas realizaciones, el núcleo lipídico se estabiliza mediante tensioactivos (*por ejemplo*, emulsionantes) y puede comprender uno o más de los triglicéridos (*por ejemplo*, triestearina), diglicéridos (*por ejemplo*, bahenato de glicerol), monoglicéridos (*por ejemplo*, monoestearato de glicerol), ácidos grasos (*por ejemplo*, ácido esteárico), esteroides (*por ejemplo*, colesterol) y ceras (*por ejemplo*, palmitato de cetilo), incluyendo combinaciones de los mismos. Las nanopartículas lipídicas se describen, *por ejemplo*, en Petrilli *et al.*, Curr Pharm Biotechnol. 15: 847-55, 2014; y Patentes de EE.UU. Nos. 66,217,912; 6,881,421; 7,402,573; 7,404,969; 7,550,441; 7,727,969; 8,003,621; 8,691,750; 8,871,509; 9,017,726; 9,173,853; 9,220,779; 9,227,917; y 9,278,130, cada uno de los cuales se incorpora como referencia en su totalidad.

5.2 Anticuerpos anti-CD73

[0361] En un aspecto, la presente divulgación proporciona anticuerpos que se unen específicamente a CD73 (*por ejemplo*, CD73 humana, CD73 de mono Cynomolgus o CD73 de ratón) y antagonizan la función de CD73. Las secuencias de aminoácidos de los anticuerpos ejemplares se exponen en la Tabla 1 de este documento.

Tabla 1. Secuencias de aminoácidos de anticuerpos anti-CD73 ejemplares.

Descripción	Secuencia de Aminoácidos	SEQ ID NO
BA010 CDRH1 (Kabat)	NYWMH	1
BA011 CDRH1 (Kabat)	SSWIN	2
BA010 CDRH2 (Kabat)	TIYPRNSDTNYNQKFKG	3
BA011 CDRH2 (Kabat)	RIYPRNGDTNYNGKFKD	4
BA023 CDRH2 (Kabat)	RIYPRAGDTNYAGKFKD	5

Descripción	Secuencia de Aminoácidos	SEQ ID NO
BA024 CDRH2 (Kabat)	RIYPRSGDTNYSKGKFD	6
BA010 CDRH3 (Kabat)	LLDYSMDY	7
BA010 CDRL1 (Kabat)	RASQDISNYLN	8
BA021 CDRL1 (Kabat)	RASQDISISLN	9
BA010 CDRL2 (Kabat)	YTSRLHS	10
BA010 CDRL3 (Kabat)	QQGNTLPWT	11
BA012 CDRL3 (Kabat)	QQGNTLPLT	12
BA025 CDRH1 (IMGT única)	GYAFSSSW	143
BA025 CDRH2 (IMGT única)	IYPRAGDT	144
BA025 CDRH3 (IMGT única)	ASLLDYSMDY	145
BA025 CDRL1 (IMGT única)	QDISNY	146
BA025 CDRL2 (IMGT única)	YTS	147
BA025 CDRL3 (IMGT única)	QQGNTLPLT	12
BA025 CDRH1 (Chothia)	GYAFSSS	148
BA025 CDRH2 (Chothia)	YPRAGD	149
BA025 CDRH3 (Chothia)	LLDYSMDY	7
BA025 CDRL1 (Chothia)	RASQDISNYLN	8
BA025 CDRL2 (Chothia)	YTSRLHS	10
BA025 CDRL3 (Chothia)	QQGNTLPLT	12
BA025 CDRH1 (Aho)	ASGYAFSSSW	150
BA025 CDRH2 (Aho)	IYPRAGDTNYAGKFKDQ	151
BA025 CDRH3 (Aho)	LLDYSMD	152
BA025 CDRL1 (Aho)	ASQDISNY	153
BA025 CDRL2 (Aho)	YTSRLHSGVPSR	154

Descripción	Secuencia de Aminoácidos	SEQ ID NO
BA025 CDRL3 (A _{Ho})	GNTLPL	155
BA020 CDRH1 (IMGT única)	GYAFSSSW	143
BA020 CDRH2 (IMGT única)	IYPRNGDT	156
BA020 CDRH3 (IMGT única)	ASLLDYSMDY	145
BA020 CDRL1 (IMGT única)	QDISNY	146
BA020 CDRL2 (IMGT única)	YTS	147
BA020 CDRL3 (IMGT única)	QQGNTLPLT	12
BA020 CDRH1 (Chothia)	GYAFSSS	148
BA020 CDRH2 (Chothia)	YPRNGD	157
BA020 CDRH3 (Chothia)	LLDYSMDY	7
BA020 CDRL1 (Chothia)	RASQDISNYLN	8
BA020 CDRL2 (Chothia)	YTSRLHS	10
BA020 CDRL3 (Chothia)	QQGNTLPLT	12
BA020 CDRH1 (A _{Ho})	ASGYAFSSSW	150
BA020 CDRH2 (A _{Ho})	IYPRNGDTNYNGKFKDQ	158
BA020 CDRH3 (A _{Ho})	LLDYSMD	152
BA020 CDRL1 (A _{Ho})	ASQDISNY	153
BA020 CDRL2 (A _{Ho})	YTSRLHSGVPSR	154
BA020 CDRL3 (A _{Ho})	GNTLPL	155
Secuencia de consenso de CDRH1	X ₁ X ₂ WX ₃ X ₄ , en donde: X ₁ es S o N; X ₂ es S o Y; X ₃ es I o M; y X ₄ es N o H	13

Descripción	Secuencia de Aminoácidos	SEQ ID NO
Secuencia 1 de consenso de CDRH2	X ₁ IYPRX ₂ X ₃ DTNYX ₄ X ₅ KFKX ₆ , en donde: X ₁ es R o T; X ₂ es N, A, o S; X ₃ es G o S; X ₄ es N, A, o S; X ₅ es G o Q; y X ₆ es D o G	14
Secuencia 2 de consenso de CDRH2	RIYPRX ₁ GDTNYX ₂ GKFKD, en donde: X ₁ es N, A, o S; y X ₂ es N, A, o S	15
Secuencia de consenso de CDRL1	RASQDISX ₁ X ₂ LN, en donde: X ₁ es N o I; y X ₂ es Y o S	16
Secuencia de consenso de CDRL3	QQGNTLPXT, en donde: X es L o W	17
Secuencia de V _H de línea germinal murina muIgHV1S12	QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTSYIHVWK QRPQGQLEWIGYIYPRDGSTNYNEKFKGKATLTADTSS STAYMQLSSLTSEDSAVYFCAR	18
BA010 V _H (murina)	XVQLQQPGTVLARPGASVKMSCKTSGYTFTNYWMHW VKQRPQGQLEWIGTIYPRNSDTNYNQKFKGKAKLTAV TSASTAYMELSSLTNEDSAIIYCASLLDYSMDYWGQG TSVTVSS, en donde X es Q o piroglutamato	19
BA011 V _H (murina)	XVQLKQSGPELVKPGASVKISCKASGYAFSSSWINWVN QRPKGQLEWIGRIYPRNGDTNYNGKFKDRATLTADRSS STAYLQLSSLTPEDSAVYFCASLLDYSMDYWGQGTSTV VSS, en donde X es Q o piroglutamato	20
BA012 V _H (murina)	XVKLVESGPELVKPGASVKISCKASGYAFSSSWINWVN QRPKGQLEWIGRIYPRNGDTNYNGKFKDRATLTADRSS STAYLQLSSLTSEDSAVYFCASLLDYSMDYWGQGTSTV VSS, en donde X es E o piroglutamato	21
Secuencia de V _H de línea germinal humana huIgHV5-51*02	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWTGWV RQMPGKQLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGVTVISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYFCAR	22
BA019 V _H (humanizada)	XVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYAFSSSWINWVR QMPGKQLEWMGRIYPRNGDTNYNGKFKDQVTISADKS ISTAYLQWSSLKASDTAMYFCARLLDYSMDYWGQGT LVTVSS, en donde X es E o piroglutamato	23
BA020 V _H (humanizada)	XVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKASGYAFSSSWINWVR QMPGKQLEWMGRIYPRNGDTNYNGKFKDQVTISADKS ISTAYLQWSSLKASDTAMYFCASLLDYSMDYWGQGT LVTVSS, en donde X es E o piroglutamato	24
BA023 V _H (humanizada)	XVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYAFSSSWINWVR QMPGKQLEWMGRIYPRAGDTNYAGKFKDQVTISADKS ISTAYLQWSSLKASDTAMYFCARLLDYSMDYWGQGT LVTVSS, en donde X es E o piroglutamato	25

Descripción	Secuencia de Aminoácidos	SEQ ID NO
BA024 V _H (humanizada)	XVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYAFSSSWINWVR QMPGKGLEWMGRIYPRSGDTNYSKFKDQVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYYCARLLDYSMDYWGQGTL VTVSS, en donde X es E o piroglutamato	26
BA025 V _H (humanizada)	XVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKASGYAFSSSWINWVR QMPGKGLEWMGRIYPRAGDTNYAGKFKDQVTISADKS ISTAYLQWSSLKASDTAMYYCASLLDYSMDYWGQGTL VTVSS, en donde X es E o piroglutamato	27
BA026 V _H (humanizada)	XVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKASGYAFSSSWINWVR QMPGKGLEWMGRIYPRSGDTNYSKFKDQVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYYCASLLDYSMDYWGQGTL VTVSS, en donde X es E o piroglutamato	28
BA031 V _H (humanizada)	XVKLVESGAEVKKPGESLKISCKASGYAFSSSWINWVN QMPGKGLEWIGRIYPRNGDTNYNGKFKDQVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYYCASLLDYSMDYWGQGTL VTVSS, en donde X es E o piroglutamato	29
BA032 V _H (humanizada)	XVKLVESGAEVKKPGESLKISCKASGYAFSSSWINWVN QMPGKGLEWIGRIYPRNGDTNYNGKFKDQVTLSADRS SSTAYLQWSSLKASDTAMYYCASLLDYSMDYWGQGT LTVSS, en donde X es E o piroglutamato	30
Secuencia de consenso de V _H humanizada	X ₁ VQLVQSGAEVKKPGESLKISCKX ₂ SGYAFSSSWINWV RQMPGKGLEWMGRIYPRX ₃ GDTNYX ₄ GKFKDQVTISAD KSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCAX ₅ LLDYSMDYWGQ GTLTVSS, en donde: X ₁ es E o piroglutamato; X ₂ es G o A; X ₃ es N, A, o S; X ₄ es N, A, o S; y X ₅ es R o S	31
Secuencia de V _L de línea germinal murina muIgKV10-96	DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQ KPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNL EQEDIATYFCQQGNTLP	32
BA010 V _L (murina)	DIQMTQSTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQK PDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLE QEDIATYFCQQGNTLPWTFGGGKLEIK	33
BA011 V _L (murina)	DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQ KPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNL EQEDIATYFCQQGNTLPWTFGGGKLEIK	34
BA012 V _L (murina)	DIQMTQSTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQK PDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLE QEDIATYFCQQGNTLPWTFGAGTKLELK	35
Secuencia de V _L de línea germinal humana huIgKV1-33*01	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQ KPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSL QPEDIATYYCQQYDNLPP	36
BA019 V _L (humanizada)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQ KPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSL QPEDIATYYCQQGNTLPWTFGQGTKVEIK	37

Descripción	Secuencia de Aminoácidos	SEQ ID NO
BA021 V _L (humanizada)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISISLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYFTISLQ PEDIATYYCQQGNTLPLTFGQGTKVEIK	38
BA033 V _L (humanizada)	DIQMTQTPSSLSASVGDRVTISCRASQDISISLNWYQQK PGKTPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYFTISLQ PEDIATYYCQQGNTLPLTFGQGTKVEIK	39
BA034 V _L (humanizada)	DIQMTQTTSSLSASVGDRVTISCRASQDISISLNWYQQK PGKTPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISLQ PEDIATYFCQQGNTLPLTFGQGTKVEIK	40
Secuencia 1 de consenso de V _L humanizada	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISX ₁ X ₂ LNWYQ QKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDX ₃ TFTIS SLQPEDIATYYCQQGNTLPLTFGQGTKVEIK, en donde: X ₁ es N o I; X ₂ es Y o S; y X ₃ es F o Y	41
Secuencia de consenso de V _L humanizada	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISX ₁ X ₂ LNWYQ QKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDX ₃ TFTIS SLQPEDIATYYCQQGNTLPLTFGQGTKVEIK, en donde: X ₁ X ₂ es NY o IS; y X ₃ es F o Y	42
Región constante de cadena pesada de IgG2a de ratón	AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVT LTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPS QSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNL LGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQ ISWVFNNEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHGD WMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYV LPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDMPEDIYVEWTNNGKT ELNYKNTEPVLDSGYSFYMSKLRVEKKNWVERNSYS CSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK	43
Región constante de cadena pesada de IgG2a de ratón (sin lisina del C-terminal)	AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVT LTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPS QSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNL LGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQ ISWVFNNEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHGD WMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYV LPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDMPEDIYVEWTNNGKT ELNYKNTEPVLDSGYSFYMSKLRVEKKNWVERNSYS CSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG	44
Región constante de cadena pesada de IgG2a de ratón con mutación N297A	AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVT LTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPS QSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNL LGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQ ISWVFNNEVHTAQTQTHREDYASTLRVVSALPIQHGD WMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYV LPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDMPEDIYVEWTNNGKT ELNYKNTEPVLDSGYSFYMSKLRVEKKNWVERNSYS CSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK	45

Descripción	Secuencia de Aminoácidos	SEQ ID NO
Región constante de cadena pesada de IgG2a de ratón con mutación N297A (sin lisina del C-terminal)	AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVT LTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPS QSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNL LGGPSVFIFFPKIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQ ISWVFNNEVHTAQQTQTHREDYASTLRVVSALPIQHOD WMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYV LPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDMPEDIYVEWTNNGKT ELNYKNTEPVLDSGDSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYS CSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG	46
Región constante de cadena pesada de IgG1 humana	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	47
Región constante de cadena pesada de IgG1 humana (sin lisina del C-terminal)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	48
Región constante de cadena pesada de IgG1 humana con mutación N297A	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	49
Región constante de cadena pesada de IgG1 humana con mutación N297A (sin lisina del C-terminal)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	50

Descripción	Secuencia de Aminoácidos	SEQ ID NO
Región constante de cadena pesada de IgG2 humana	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGT QTYTCNVDPKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCAPPVA GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHGD WLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	51
Región constante de cadena pesada de IgG2 humana (sin lisina del C-terminal)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGT QTYTCNVDPKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCAPPVA GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHGD WLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG	52
Región constante de cadena pesada de IgG1 humana A330S-P331S/G ₂ híbrida	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGT QTYTCNVDPKPSNTKVDKTVERKSCVECPPCAPPVAG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	53
Región constante de cadena pesada de IgG1 humana A330S-P331S/G ₂ híbrida (sin lisina del C-terminal)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGT QTYTCNVDPKPSNTKVDKTVERKSCVECPPCAPPVAG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG	54
Región constante de cadena pesada de IgG1 humana N297A/G ₂ híbrida	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGT QTYTCNVDPKPSNTKVDKTVERKSCVECPPCAPPVAG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	55

Descripción	Secuencia de Aminoácidos	SEQ ID NO
Región constante de cadena pesada de IgG1 humana N297A/G ₂ híbrida (sin lisina del C-terminal)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGT QTYTCNVDPKPSNTKVDKTVERKSCVECPPCPAPPVAG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG	56
Región constante de cadena pesada de IgG ₄ humana con mutación S228P	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT KTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLGLG	57
Región constante de cadena pesada de IgG ₄ humana con mutación S228P (sin lisina del C-terminal)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT KTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLGLG	58
Cadena pesada de longitud completa murina BA012 (columna de IgG2a murina con mutación N297A)	XVKLVESGPFLVKPGASVKISCKASGYAFSSSWINWVN QRPGKLEWIGRIYPRNGDTNYNGKFKDRATLTADRSS STAYLQLSSLTSEDSAVYFCASLLDYSDYWGQGTSTV VSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEP VTLTWNSSGLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSST WPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPA PNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDP DVQISWVFNNEVHTAQTQTHREDYASTLRVVSALPIQ HQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQ VYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDMPEDIYVEWTNN GKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERN SYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK, en donde X es E o piroglutamato	63

Descripción	Secuencia de Aminoácidos	SEQ ID NO
Cadena pesada de longitud completa murina BA012 (columna de IgG2a murina con mutación N297A y sin lisina del C-terminal)	XVKLVESGPPELVKPGASVKISCKASGYAFSSSWINWVN QRPKGKLEWIGRIYPRNGDTNYNGKFKDRATLTADRSS STAYLQLSSLTSEDSAVYFCASLLDYSDMDYWGQGSVT VSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEP VTLTWNSSGLSSGSVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSST WPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPA PNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDP DVQISWVFNNEVHTAQTQTHREDYASTLRVVSALPIQ HQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQ VYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDMPEDIYVEWTNN GKTELNYKNTEPVLDSGDSYFMYSKLRVEKKNWVERN SYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG, en donde X es E o piroglutamato	64
Cadena pesada de longitud completa quimérica BA013 (dominio variable murino + dominio constante de IgG1 humana con mutación N297A)	XVQLQQPGTVLARPGASVKMSCKTSGYTFTNYWMHW VKQRPQGKLEWIGTIYPRNSDTNYNQKFKGKAKLTAV TSASTAYMELSSLTNEDSAIIYCASLLDYSDMDYWGQG TSVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK, en donde X es Q o piroglutamato	65
Cadena pesada de longitud completa quimérica BA013 (dominio variable murino + dominio constante de IgG1 humana con mutación N297A y sin lisina del C-terminal)	XVQLQQPGTVLARPGASVKMSCKTSGYTFTNYWMHW VKQRPQGKLEWIGTIYPRNSDTNYNQKFKGKAKLTAV TSASTAYMELSSLTNEDSAIIYCASLLDYSDMDYWGQG TSVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG, en donde X es Q o piroglutamato	66

Descripción	Secuencia de Aminoácidos	SEQ ID NO
Cadena pesada de longitud completa quimérica BA014 (dominio variable murino + dominio constante de IgG1 humana con mutación N297A)	XVQLKQSGPELVKPGASVKISCKASGYAFSSSWINWVN QRPKGLEWIGRIYPRNGDTNYNGKFKDRATLTADRSS STAYLQLSSLTPEDSAVYFCASLLDYSMDYWGQGTSTV VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK, en donde X es Q o piroglutamato	67
Cadena pesada de longitud completa quimérica BA014 (dominio variable murino + dominio constante de IgG1 humana con mutación N297A y sin lisina del C-terminal)	XVQLKQSGPELVKPGASVKISCKASGYAFSSSWINWVN QRPKGLEWIGRIYPRNGDTNYNGKFKDRATLTADRSS STAYLQLSSLTPEDSAVYFCASLLDYSMDYWGQGTSTV VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG, en donde X es Q o piroglutamato	68
BA015 cadena pesada quimérica de longitud completa (dominio variable murino + dominio constante de IgG1 humana con mutación N297A)	XVKLVESGPELVKPGASVKISCKASGYAFSSSWINWVN QRPKGLEWIGRIYPRNGDTNYNGKFKDRATLTADRSS STAYLQLSSLTSEDSAVYFCASLLDYSMDYWGQGTSTV VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK, en donde X es E o piroglutamato	69
BA015 cadena pesada quimérica de longitud completa (dominio variable murino + dominio constante de IgG1 humana con mutación N297A y sin lisina C-terminal)	XVKLVESGPELVKPGASVKISCKASGYAFSSSWINWVN QRPKGLEWIGRIYPRNGDTNYNGKFKDRATLTADRSS STAYLQLSSLTSEDSAVYFCASLLDYSMDYWGQGTSTV VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE	70

Descripción	Secuencia de Aminoácidos	SEQ ID NO
	SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG, en donde X es E o piroglutamato	
BA016 cadena pesada quimérica de longitud completa (región variable murina + región constante de IgG ₂ humana)	XVKLVESGPELVKPGASVKISCKASGYAFSSSWINWVN QRPKGKLEWIGRIYPRNGDTNYNGKFKDRATLTADRSS STAYLQLSSLTSEDSAVYFCASLLDYSMDYWGQGTSTV VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS NFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPAP PVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVV HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTPPMMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK, en donde X es E o piroglutamato	71
BA016 cadena pesada quimérica de longitud completa (región variable murina + región constante de IgG ₂ humana y sin lisina C-terminal)	XVKLVESGPELVKPGASVKISCKASGYAFSSSWINWVN QRPKGKLEWIGRIYPRNGDTNYNGKFKDRATLTADRSS STAYLQLSSLTSEDSAVYFCASLLDYSMDYWGQGTSTV VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS NFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPAP PVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVV HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTPPMMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG, en donde X es E o piroglutamato	72
BA017 cadena pesada quimérica de longitud completa (región variable murina + región constante híbrida IgG ₁ -A330S-P331S / IgG ₂ humana)	XVKLVESGPELVKPGASVKISCKASGYAFSSSWINWVN QRPKGKLEWIGRIYPRNGDTNYNGKFKDRATLTADRSS STAYLQLSSLTSEDSAVYFCASLLDYSMDYWGQGTSTV VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS NFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVECPAP PVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK, en donde X es E o piroglutamato	73
BA017 cadena pesada quimérica de longitud completa (región variable murina + región constante híbrida IgG ₁ -A330S-P331S / IgG ₂ humana)	XVKLVESGPELVKPGASVKISCKASGYAFSSSWINWVN QRPKGKLEWIGRIYPRNGDTNYNGKFKDRATLTADRSS STAYLQLSSLTSEDSAVYFCASLLDYSMDYWGQGTSTV VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS NFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVECPAP PVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE	74

Descripción	Secuencia de Aminoácidos	SEQ ID NO
y sin lisina C-terminal)	VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG, en donde X es E o piroglutamato	
BA018 cadena pesada quimérica de longitud completa (región variable murina + región constante híbrida IgG ₁ -N297A / IgG ₂ humana)	XVKLVESGPPELVKPGASVKISCKASGYAFSSSWINWVN QRPKGLEWIGRIYPRNGDTNYNGKFKDRATLTADRSS STAYLQLSSLTSEDSAVYFCASLLDYSMDYWGGTSVT VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS NFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKSCVECPAP PVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK, en donde X es E o piroglutamato	75
BA018 cadena pesada quimérica de longitud completa (región variable murina + región constante híbrida IgG ₁ -N297A / IgG ₂ humana y sin lisina C-terminal)	XVKLVESGPPELVKPGASVKISCKASGYAFSSSWINWVN QRPKGLEWIGRIYPRNGDTNYNGKFKDRATLTADRSS STAYLQLSSLTSEDSAVYFCASLLDYSMDYWGGTSVT VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS NFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKSCVECPAP PVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG, en donde X es E o piroglutamato	76
BA019 cadena pesada humanizada de longitud completa (esqueleto de IgG ₁ humana con mutación N297A)	XVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYAFSSSWINWVR QMPKGLEWMGRIYPRNGDTNYNGKFKDQVTISADKS ISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARLLDYSMDYWGGGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK, en donde X es E o piroglutamato	77
BA019 cadena pesada humanizada de longitud completa (esqueleto de IgG ₁	XVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYAFSSSWINWVR QMPKGLEWMGRIYPRNGDTNYNGKFKDQVTISADKS ISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARLLDYSMDYWGGGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF	78

Descripción	Secuencia de Aminoácidos	SEQ ID NO
humana con mutación N297A y sin lisina C-terminal)	PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG, en donde X es E o piroglutamato	
BA020 cadena pesada humanizada de longitud completa (esqueleto de IgG ₁ humana con mutación N297A)	XVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKASGYAFSSSWINWVR QMPGKGLEWMGRIYPRNGDTNYNGKFKDQVTISADKS ISTAYLQWSSLKASDTAMYYCASLLDYSMDYWGQGT LTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPS SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK, en donde X es E o piroglutamato	79
BA020 cadena pesada humanizada de longitud completa (esqueleto de IgG ₁ humana con mutación N297A y sin lisina C-terminal)	XVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKASGYAFSSSWINWVR QMPGKGLEWMGRIYPRNGDTNYNGKFKDQVTISADKS ISTAYLQWSSLKASDTAMYYCASLLDYSMDYWGQGT LTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPS SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG, en donde X es E o piroglutamato	80
BA023 cadena pesada humanizada de longitud completa (esqueleto de IgG ₁ humana con mutación N297A)	XVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYAFSSSWINWVR QMPGKGLEWMGRIYPRAGDTNYAGKFKDQVTISADKS ISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARLLDYSMDYWGQGT LTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK, en donde X es E o piroglutamato	81

Descripción	Secuencia de Aminoácidos	SEQ ID NO
BA023 cadena pesada humanizada de longitud completa (esqueleto de IgG ₁ humana con mutación N297A y sin lisina C-terminal)	XVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYAFSSSWINWVR QMPGKGLEWMGRIYPRAGDTNYAGKFKDQVTISADKS ISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARLLDYSMDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG, en donde X es E o piroglutamato	82
BA024 cadena pesada humanizada de longitud completa (esqueleto de IgG ₁ humana con mutación N297A)	XVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYAFSSSWINWVR QMPGKGLEWMGRIYPRSGDTNYSKFKDQVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYYCARLLDYSMDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPS SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK, en donde X es E o piroglutamato	83
BA024 cadena pesada humanizada de longitud completa (esqueleto de IgG ₁ humana con mutación N297A y sin lisina C-terminal)	XVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYAFSSSWINWVR QMPGKGLEWMGRIYPRSGDTNYSKFKDQVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYYCARLLDYSMDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPS SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG, en donde X es E o piroglutamato	84
BA025 cadena pesada humanizada de longitud completa (esqueleto de IgG ₁ humana con mutación N297A)	XVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKASGYAFSSSWINWVR QMPGKGLEWMGRIYPRAGDTNYAGKFKDQVTISADKS ISTAYLQWSSLKASDTAMYYCASLLDYSMDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPS SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE	85

Descripción	Secuencia de Aminoácidos	SEQ ID NO
	WESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK, en donde X es E o piroglutamato	
BA025 cadena pesada humanizada de longitud completa (esqueleto de IgG ₁ humana con mutación N297A y sin lisina C-terminal)	XVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKASGYAFSSSWINWVR QMPGKGLEWMGRIYPRAGDTNYAGKFKDQVTISADKS ISTAYLQWSSLKASDTAMYYCASLLDYSMDYWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPP CPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG, en donde X es E o piroglutamato	86
BA026 cadena pesada humanizada de longitud completa (esqueleto de IgG ₁ humana con mutación N297A)	XVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKASGYAFSSSWINWVR QMPGKGLEWMGRIYPRSGDTNYSKFKDQVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYYCASLLDYSMDYWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPP CPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK, en donde X es E o piroglutamato	87
BA026 cadena pesada humanizada de longitud completa (esqueleto de IgG ₁ humana con mutación N297A y sin lisina C-terminal)	XVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKASGYAFSSSWINWVR QMPGKGLEWMGRIYPRSGDTNYSKFKDQVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYYCASLLDYSMDYWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPP CPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG, en donde X es E o piroglutamato	88
Región constante de la cadena ligera de Igκ de murino	RADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINV KWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTTLTK DEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC	89
BA012 cadena ligera de longitud completa (murino)	DIQMTQSTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQK PDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLE QEDIATYFCQQGNTLPLTFGAGTKLELKRADAAPTVSIF PPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQ	92

Descripción	Secuencia de Aminoácidos	SEQ ID NO
	NGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYT CEATHKTSTSPIVKSFNRECE	
Región constante de la cadena ligera de Igκ humana	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	93
BA013 cadena ligera de longitud completa (quimérica; variable murina + región constante de Igκ humana)	DIQMTQSTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQK PDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLE QEDIATYFCQQGNTLPWTFGGGKLEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	94
BA014 cadena ligera de longitud completa (quimérica; variable murina + región constante de Igκ humana)	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQ KPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLE EQEDIATYFCQQGNTLPWTFGGGKLEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	95
BA015 cadena ligera de longitud completa (quimérica; variable murina + región constante de Igκ humana)	DIQMTQSTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQK PDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLE QEDIATYFCQQGNTLPWTFGGGKLEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	96
BA019 cadena ligera de longitud completa (humanizado)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQ KPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFTFTIS SLQPEDIATYYCQQGNTLPWTFGGGKLEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	97
BA021 cadena ligera de longitud completa (humanizado)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISISLNWYQQK PGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYFTFTIS SLQPEDIATYYCQQGNTLPWTFGGGKLEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	98

Tabla 2. Secuencias de CDR de cadena pesada de anticuerpos anti-CD73 ejemplares

Anticuerpo	CDRH1 (SEQ ID NO)	CDRH2 (SEQ ID NO)	CDRH3 (SEQ ID NO)
BA010	NYWMH (1)	TIYPRNSDTNYNQKFKG (3)	LLDYSMDY (7)
BA011	SSWIN (2)	RIYPRNGDTNYNGKFKD (4)	LLDYSMDY (7)
BA012	SSWIN (2)	RIYPRNGDTNYNGKFKD (4)	LLDYSMDY (7)
BA013	NYWMH (1)	TIYPRNSDTNYNQKFKG (3)	LLDYSMDY (7)

Anticuerpo	CDRH1 (SEQ ID NO)	CDRH2 (SEQ ID NO)	CDRH3 (SEQ ID NO)
BA014	SSWIN (2)	RIYPRNGDTNYNGKFKD (4)	LLDYSMDY (7)
BA015	SSWIN (2)	RIYPRNGDTNYNGKFKD (4)	LLDYSMDY (7)
BA016	SSWIN (2)	RIYPRNGDTNYNGKFKD (4)	LLDYSMDY (7)
BA017	SSWIN (2)	RIYPRNGDTNYNGKFKD (4)	LLDYSMDY (7)
BA018	SSWIN (2)	RIYPRNGDTNYNGKFKD (4)	LLDYSMDY (7)
BA019	SSWIN (2)	RIYPRNGDTNYNGKFKD (4)	LLDYSMDY (7)
BA020	SSWIN (2)	RIYPRNGDTNYNGKFKD (4)	LLDYSMDY (7)
BA021	SSWIN (2)	RIYPRNGDTNYNGKFKD (4)	LLDYSMDY (7)
BA022	SSWIN (2)	RIYPRNGDTNYNGKFKD (4)	LLDYSMDY (7)
BA023	SSWIN (2)	RIYPRAGDTNYAGKFKD (5)	LLDYSMDY (7)
BA024	SSWIN (2)	RIYPRSGDTNYSKFKD (6)	LLDYSMDY (7)
BA025	SSWIN (2)	RIYPRAGDTNYAGKFKD (5)	LLDYSMDY (7)
BA026	SSWIN (2)	RIYPRSGDTNYSKFKD (6)	LLDYSMDY (7)
BA027	SSWIN (2)	RIYPRAGDTNYAGKFKD (5)	LLDYSMDY (7)
BA028	SSWIN (2)	RIYPRSGDTNYSKFKD (6)	LLDYSMDY (7)
BA029	SSWIN (2)	RIYPRAGDTNYAGKFKD (5)	LLDYSMDY (7)
BA030	SSWIN (2)	RIYPRSGDTNYSKFKD (6)	LLDYSMDY (7)
BA031	SSWIN (2)	RIYPRNGDTNYNGKFKD (4)	LLDYSMDY (7)
BA032	SSWIN (2)	RIYPRNGDTNYNGKFKD (4)	LLDYSMDY (7)
BA033	SSWIN (2)	RIYPRNGDTNYNGKFKD (4)	LLDYSMDY (7)
BA034	SSWIN (2)	RIYPRNGDTNYNGKFKD (4)	LLDYSMDY (7)
BA035	SSWIN (2)	RIYPRNGDTNYNGKFKD (4)	LLDYSMDY (7)
BA036	SSWIN (2)	RIYPRNGDTNYNGKFKD (4)	LLDYSMDY (7)
BA037	SSWIN (2)	RIYPRAGDTNYAGKFKD (5)	LLDYSMDY (7)
BA038	SSWIN (2)	RIYPRNGDTNYNGKFKD (4)	LLDYSMDY (7)

Anticuerpo	CDRH1 (SEQ ID NO)	CDRH2 (SEQ ID NO)	CDRH3 (SEQ ID NO)
BA039	SSWIN (2)	RIYPRNGDTNYNGKFKD (4)	LLDYSMDY (7)
BA040	SSWIN (2)	RIYPRAGDTNYAGKFKD (5)	LLDYSMDY (7)
BA041	SSWIN (2)	RIYPRNGDTNYNGKFKD (4)	LLDYSMDY (7)
BA042	SSWIN (2)	RIYPRAGDTNYAGKFKD (5)	LLDYSMDY (7)
BA043	SSWIN (2)	RIYPRNGDTNYNGKFKD (4)	LLDYSMDY (7)
BA044	SSWIN (2)	RIYPRAGDTNYAGKFKD (5)	LLDYSMDY (7)
BA045	SSWIN (2)	RIYPRNGDTNYNGKFKD (4)	LLDYSMDY (7)
BA046	SSWIN (2)	RIYPRAGDTNYAGKFKD (5)	LLDYSMDY (7)
BA047	SSWIN (2)	RIYPRNGDTNYNGKFKD (4)	LLDYSMDY (7)
BA048	SSWIN (2)	RIYPRAGDTNYAGKFKD (5)	LLDYSMDY (7)

Las CDR de V_H de la Tabla 2 se determinan según Kabat.

Tabla 3. Secuencias de CDR de cadena ligera de anticuerpos anti-CD73 ejemplares

Anticuerpo	CDRL1 (SEQ ID NO)	CDRL2 (SEQ ID NO)	CDRL3 (SEQ ID NO)
BA010	RASQDISNYLN (8)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPWT (11)
BA011	RASQDISNYLN (8)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPWT (11)
BA012	RASQDISNYLN (8)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPLT (12)
BA013	RASQDISNYLN (8)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPWT (11)
BA014	RASQDISNYLN (8)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPWT (11)
BA015	RASQDISNYLN (8)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPLT (12)
BA016	RASQDISNYLN (8)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPLT (12)
BA017	RASQDISNYLN (8)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPLT (12)
BA018	RASQDISNYLN (8)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPLT (12)
BA019	RASQDISNYLN (8)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPLT (12)
BA020	RASQDISNYLN (8)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPLT (12)

Anticuerpo	CDRL1 (SEQ ID NO)	CDRL2 (SEQ ID NO)	CDRL3 (SEQ ID NO)
BA021	RASQDISISLN (9)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPLT (12)
BA022	RASQDISISLN (9)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPLT (12)
BA023	RASQDISNYLN (8)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPLT (12)
BA024	RASQDISNYLN (8)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPLT (12)
BA025	RASQDISNYLN (8)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPLT (12)
BA026	RASQDISNYLN (8)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPLT (12)
BA027	RASQDISISLN (9)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPLT (12)
BA028	RASQDISISLN (9)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPLT (12)
BA029	RASQDISISLN (9)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPLT (12)
BA030	RASQDISISLN (9)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPLT (12)
BA031	RASQDISISLN (9)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPLT (12)
BA032	RASQDISISLN (9)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPLT (12)
BA033	RASQDISISLN (9)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPLT (12)
BA034	RASQDISISLN (9)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPLT (12)
BA035	RASQDISNYLN (8)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPLT (12)
BA036	RASQDISNYLN (8)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPLT (12)
BA037	RASQDISNYLN (8)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPLT (12)
BA038	RASQDISNYLN (8)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPLT (12)
BA039	RASQDISNYLN (8)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPLT (12)
BA040	RASQDISNYLN (8)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPLT (12)
BA041	RASQDISNYLN (8)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPLT (12)
BA042	RASQDISNYLN (8)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPLT (12)
BA043	RASQDISNYLN (8)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPLT (12)
BA044	RASQDISNYLN (8)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPLT (12)
BA045	RASQDISNYLN (8)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPLT (12)

Anticuerpo	CDRL1 (SEQ ID NO)	CDRL2 (SEQ ID NO)	CDRL3 (SEQ ID NO)
BA046	RASQDISNYLN (8)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPLT (12)
BA047	RASQDISNYLN (8)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPLT (12)
BA048	RASQDISNYLN (8)	YTSRLHS (10)	QQGNTLPLT (12)

Las CDR de V_L en la Tabla 3 se determinan de acuerdo con Kabat.

Tabla 4. V_H, V_L, cadena pesada de longitud completa, y secuencias de cadena ligera de longitud completa de anticuerpos anti-CD73 ejemplares *

Anticuerpo	V_H SEQ ID NO.	Cadena pesada de longitud completa SEQ ID NO.	V_L SEQ ID NO.	Cadena ligera de longitud completa SEQ ID NO.
BA010	19	N/A	33	N/A
BA011	20	N/A	34	N/A
BA012	21	64	35	92
BA013	19	65	33	94
BA014	20	67	34	95
BA015	21	70	35	96
BA016	21	71	35	96
BA017	21	73	35	96
BA018	21	75	35	96
BA019	23	77	37	97
BA020	24	79	37	97
BA021	23	77	38	98
BA022	24	79	38	98
BA023	25	81	37	97
BA024	26	83	37	97
BA025	27	85	37	97
BA026	28	87	37	97
BA027	25	81	38	98
BA028	26	83	38	98
BA029	27	85	38	98
BA030	28	87	38	98
BA031	29	N/A	37	N/A
BA032	30	N/A	37	N/A

Anticuerpo	V_H SEQ ID NO.	Cadena pesada de longitud completa SEQ ID NO.	V_L SEQ ID NO.	Cadena ligera de longitud completa SEQ ID NO.
BA033	23	N/A	39	N/A
BA034	23	N/A	40	N/A
BA035	21	113	35	92
BA036	24	114	37	97
BA037	27	115	37	97
BA038	21	123	35	92
BA039	24	124	37	128
BA040	27	125	37	128
BA041	24	126	37	97
BA042	27	127	37	97
BA043	24	116	37	97
BA044	27	117	37	97
BA045	24	118	37	97
BA046	27	119	37	97
BA047	24	120	37	97
BA048	27	121	37	97

* En esta tabla, un polipéptido de un anticuerpo anti-CD73 que comprende un resto de unión a ligando se denomina cadena pesada de longitud completa si comprende una cadena pesada de longitud completa.

Tabla 5. Secuencias ejemplares de CD73 y familiares.

Descripción	Secuencia de Aminoácidos	SEQ ID NO
CD73 humano isoforma 1 (Secuencia de referencia NCBI: NP_002517.1)	MCPRAARAPATLLLALGAVLWPAAGAWELTILHTNDVHSR LEQTSSEDSSKCVNASRCMGGVARLFTKVQQIRRAEPNVLLL DAGDQYQGTIWFTVYKGAEVAHF MNALRYDAMALGNHEF DNGVEGLIEPLLKEAKFPILSANIKAKGPLASQISGLYLPYKV LPVGDEVVGIVGYTSKETPFLSNPGTNLVFEDEITALQPEVDK LKTNLVNKIIALGHSGFEMDKLIAQKVRGVDVVVGHSNTF LYTGNPPSKEVPAGKYPFIVTSDDGRKVPVVQAYAFGKYL YLGKIEFDERGNVISSHGNPILLNSSIPEDPSIKADINKWRIKLD NYSTQELGKTIVYLDGSSQSCRFRECNMGNLICDAMINNNLR HTDEMFWNHVSMCILNNGGIRSPIDERNNGTITWENLA AVL PFGGTDFDLVQLKGSTLKKAFEHSVHRYGQSTGEFLQVGGIHV VYDLSRKPGDRVVKLDVLCTKCRVPSYDPLKMDEVYKVILP NFLANGGDGFQMIKDELLRHDSGDQDINVVSTYISKMKVIYP AVEGRIKFSTGSHCHGSFSLIFLSLWAVIFVLYQ	99
CD73 humano isoforma 2 (Secuencia de referencia NCBI: NP_001191742.1)	MCPRAARAPATLLLALGAVLWPAAGAWELTILHTNDVHSR LEQTSSEDSSKCVNASRCMGGVARLFTKVQQIRRAEPNVLLL DAGDQYQGTIWFTVYKGAEVAHF MNALRYDAMALGNHEF DNGVEGLIEPLLKEAKFPILSANIKAKGPLASQISGLYLPYKV LPVGDEVVGIVGYTSKETPFLSNPGTNLVFEDEITALQPEVDK LKTNLVNKIIALGHSGFEMDKLIAQKVRGVDVVVGHSNTF LYTGNPPSKEVPAGKYPFIVTSDDGRKVPVVQAYAFGKYL YLGKIEFDERGNVISSHGNPILLNSSIPEDPSIKADINKWRIKLD NYSTQELGKTIVYLDGSSQSCRFRECNMGNLICDAMINNNLR HTDEMFWNHVSMCILNNGGIRSPIDERNNGIHVVYDLSRKPG DRVVKLDVLCTKCRVPSYDPLKMDEVYKVILPNFLANGGDG FQMIKDELLRHDSGDQDINVVSTYISKMKVIYP AVEGRIKFSTGSHCHGSFSLIFLSLWAVIFVLYQ	100
CD73 humano isoforma 3 (Secuencia de referencia NCBI: AAH65937)	MCPRAARAPATLLLALGAVLWPAAGAWELTILHTNDVHSR LEQTSSEDSSKCVNASRCMGGVARLFTKVQQIRRAEPNVLLL DAGDQYQGTIWFTVYKGAEVAHF MNALRYDAMALGNHEF DNGVEGLIEPLLKEAKFPILSANIKAKGPLASQISGLYLPYKV LPVGDEVVGIVGYTSKETPFLSNPGTNLVFEDEITALQPEVDK LKTNLVNKIIALGHSGFEMDKLIAQKVRGVDVVVGHSNTF LYTGNPPSKEVPAGKYPFIVTSDDGRKVPVVQAYAFGKYL YLGKIEFDERGNVISSHGNPILLNSSIPEDPSIKADINKWRIKLD NYSTQELGKTIVYLDGSSQSCRFRECNMGNLICDAMINNNLR HADETFWNHVS MCILNNGGIRSPIDERNNGTITWENLA AVL PFGGTDFDLVQLKGSTLKKAFEHSVHRYGQSTGEFLQVGGIHV VYDLSRKPGDRVVKLDVLCTKCRVPSYDPLKMDEVYKVILP NFLANGGDGFQMIKDELLRHDSGDQDINVVSTYISKMKVIYP AVEGRIKFSTGSHCHGSFSLIFLSLWAVIFVLYQ	129

CD73 humano isoforma 4 (Secuencia de referencia NCBI: EAW48635.1)	MCPRAARAPATLLLALGAVLWPAAGAWELTILHTNDVHSR LEQTSSEDSSKCVNASRCMGGVARLFTKVQQIRRAEPNVLL DAGDQYQGTIWFTVYKGAEVAHFMNALRYDAMALGNHEF DNGVEGLIEPLLKEAKFPILSANIKAKGPLASQISGLYLPYKV LPVGDEVVGIVGYTSKETPFLSNPGTNLVFEDEITALQPEVDK LKTNLVVKIILALGHSGFEMDKLIAQKVRGVDVVVGHSNTF LYTGNPPSKEVPAGKYPFIVTSDDGRKVPVVQAYAFGKYL YKIEFDERGNVISSHGNPILLNSSIPEDPSIKADINKWRIKLD NYSTQELGKTIVYLDGSSQSCRFRECNMGNLICDAMINNNLR HADEMFWNHVSMCILNGGGIRSPIDERNNGIHVVYDLSRKP GDRVVKLDVLCCKRVPSYDPLKMDEVYKVILPNFLANGGD GFQMIKDELLRHDSGDQDINVVSTYISKMKVIYPAVEGRIKF STGSHCHGSFSLIFLSLWAVIFVLYQ	130
CD73 de Cynomolgus variante 1 (Secuencia de referencia NCBI: XP_001086989. 1)	MCPRAARAPATLLLA VGALLWSAAGAWELTILHTNDVHSR LEQTSSEDSSKCVNASRCMGGVARLFTKVQQIRRAEPNVLL DAGDQYQGTIWFTVYKGAEVAHFMNALRYDAMALGNHEF DNGVEGLIEPLLKEAKFPILSANIKAKGPLASQISGLYLPYKV LPVGDEVVGIVGYTSKETPFLSNPGTNLVFEDEITALQPEVDK LKTNLVVKIILALGHSGFETDKLIAQKVRGVDVVVGHSNTFL YTGNPPSKEVPAGKYPFIVTSDDGRKVPVVQAYAFGKYLGY LKIEFDERGNVISSHGNPILLNSSIPEDPSIKADINKWRIKLDN YSTQELGKTIVYLDGSSQSCRFRECNMGNLICDAMINNNLRH ADEMFWNHVSMCILNGGGIRSPIDERNNGTITWENLAAVLPF GGTFDLVQLKGSTLKKAFEHSVHRYGQSTGEFLQVGGIHVV YDLSRKP GDRVVKLDVLCCKRVPSYDPLKMDEIYKVILPNF LANGGDGFQMIKDELLRHDSGDQDINVVSTYISKMKVIYPA VEGRIKFSTGSHCHGSFSLIFLSFCAVIFVLYQ	101
CD73 de Cynomolgus variante 2 (Secuencia de referencia NCBI: EHH53214.1)	MCPRAARAPAKLLLA VGALLWSAAGAWELTILHTNDVHSR LEQTSSEDSSKCVNASRCMGGVARLFTKVQQIRRAEPNVLL DAGDQYQGTIWFTVYKGAEVAHFMNALRYDAMALGNHEF DNGVEGLIEPLLKEAKFPILSANIKAKGPLASQISGLYLPYKV LPVGDEVVGIVGYTSKETPFLSNPGTNLVFEDEITALQPEVDK LKTNLVVKIILALGHSGFETDKLIAQKVRGVDVVVGHSNTFL YTGNPPSKEVPAGKYPFIVTSDDGRKVPVVQAYAFGKYLGY LKIEFDERGNVISSHGNPILLNSSIPEDPSIKADINKWRIKLDN YSTQELGKTIVYLDGSSQSCRFRECNMGNLICDAMINNNLRH ADEMFWNHVSMCILNGGGIRSPIDERNNGTITWENLAAVLPF GGTFDLVQLKGSTLKKAFEHSVHRYGQSTGEFLQVGGIHVV YDLSRKP GDRVVKLDVLCCKRVPSYDPLKMDEIYKVILPNF LANGGDGFQMIKDELLRHDSGDQDINVVSTYISKMKVIYPA VEGRIKFSTGSHCHGSFSLIFLSFCAVIFVLYQ	131

CD73 de ratón (Secuencia de referencia NCBI: NP_035981.1)	MRPAAAKVPKWLLALSALLPQWPAASAWELTILHTNDVH SRLEQTSDDSTKCLNASLCVGGVARLFTKVQQIRKEEPNVLF LDAGDQYQGTTWFTVYKGLEVAHFMNILGYDAMALGNHEF DNGVEGLIDPLLRNVKFPILSANIKARGPLAHQISGLFLPSKV LSVGGEVVGIVGYTSKETPFLSNPGTNLVFEDEISALQPEVDK LKTNLNVNKIIALGHSGFEMDKLIAQKVRGVDIVVGGHSNTFL YTGNNPPSKEVPAGKYPFIVTADDGRQVPVQAYAFGKYLGY LKVEFDDKGNVITSYGNPILLNSSIPEDATIKADINQWRIKLD NYSTQELGRTIVYLDGSTQTCRFRECNMGNLICDAMINNNLR HPDEMFWNHVSMCIVNNGGIRSPIDEKNNGTITWENLA AVL PFGGTFDLVQLKGSTLKKAFEHSVHRYGQSTGEFLQVGGIHV VYDINRKPNRNVVQLEVLCTKCRVPIYEPLMDKVYKVTLP SYLANGGDGFQMIKDELLKHDSGDQDISVVSEYISKMKVVY PAVEGRIKFSAAASHYQGSFPLVILSFWAMILILYQ	102
CD73 humano isoforma 1 con His-tag	WELTILHTNDVHSRLEQTSDDSKCVNASRCMGGVARLFTK VQQIRRAEPNVLLLDAGDQYQGTTWFTVYKGA EVAHFMNA LRYDAMALGNHEFDNGVEGLIEPLLKEAKFPILSANIKAKGP LASQISGLYLPYKVLPGDEVVGIVGYTSKETPFLSNPGTNLV FEDEITALQPEVDKLLKTNLNVNKIIALGHSGFEMDKLIAQKVR GVDVVVGGHSNTFLYTGNNPPSKEVPAGKYPFIVTSDGRKV PVVQAYAFGKYLGYLKIEFDERGNVISSHGNPILLNSSIPEDPS IKADINKWRIKLDNYSTQELGKTIVYLDGSSQSCRFRECNMG NLICDAMINNNLRHTDEMFWNHVSMCILNNGGIRSPIDERN GTITWENLA AVL PFGGTFDLVQLKGSTLKKAFEHSVHRYGQ STGEFLQVGGIHVVYDLSRKPGDRVVKLDVLCTKCRVPSYD PLKMDEVYKVILPNFLANGGDGFQMIKDELLRHDSGDQDIN VVSTYISKMKVIYPAVEGRIKENLYFQGLEHHHHHHHHHHHG GSGGLPETGGDR	141
CD73 de ratón con His-tag	WELTILHTNDVHSRLEQTSDDSTKCLNASLCVGGVARLFTK VQQIRKEEPNVLF LDAGDQYQGTTWFTVYKGLEVAHFMNIL GYDAMALGNHEFDNGVEGLIDPLLRNVKFPILSANIKARGPL AHQISGLFLPSKVLSVGGEVVGIVGYTSKETPFLSNPGTNLV EDEISALQPEVDKLLKTNLNVNKIIALGHSGFEMDKLIAQKVRG VDIVVGGHSNTFLYTGNNPPSKEVPAGKYPFIVTADDGRQVPV VQAYAFGKYLGYLKVEFDDKGNVITSYGNPILLNSSIPEDATI KADINQWRIKLDNYSTQELGRTIVYLDGSTQTCRFRECNMG NLICDAMINNNLRHPDEMFWNHVSMCIVNNGGIRSPIDEKN NGTITWENLA AVL PFGGTFDLVQLKGSTLKKAFEHSVHRYG QSTGEFLQVGGIHVVYDINRKPNRNVVQLEVLCTKCRVPIYE PLEMDKVYKVTLP SYLANGGDGFQMIKDELLKHDSGDQDIS VVSEYISKMKVVYPAVEGRIKENLYFQGLEHHHHHHHHHHHH GSGGLPETGGDR	142

CD73 humano Y158A mutante con His-tag	WELTILHTNDVHSRLEQTS EDSSKCVNASRCMGGVARLFTK VQQIRRAEPNVLLLDAGDQYQGT IWFTVYKGAEVAHFMNA LRYDAMALGNHEFDNGVEGLIEPL LKEAKFPILSANIKAKGP LASQISGLALPYKVLPGDEVVGIVG YTSKETPFLSNPGTNLV FEDEITALQPEVDKLT NLNVNKIIALGHSGFEMDKLIAQKVR GVDVVVGHSNTFLYTGNPPSKEVPAG KYPFIVTSDDGRKV PVVQAYAFGKYLGYLKIEFDERGNV ISSHGNPILLNSSIPEDPS IKADINKWRIKLDNYSTQELGKTIVY LDGSSQSCRFRECNMG NLICDAMINNNLRHTDEMFWNHVSMC ILNGGGIRSPIDERNN GTITWENLAAVLPFGGTFDLVQLKGST LKKA FEHSVHRYGQ STGEFLQVGGIHVVYDLSRKPGDRV VKLDVLCTKCRVPSYD PLKMDEVYKVILPNFLANGGDGFQMIK DELLRHDSGDQDIN VVSTYISKMKVIYPAVEGRIKENLYFQ GLEHHHHHHHHHHHG GSGGLPETGGDR	59
CD73 humano Y161A mutante con His-tag	WELTILHTNDVHSRLEQTS EDSSKCVNASRCMGGVARLFTK VQQIRRAEPNVLLLDAGDQYQGT IWFTVYKGAEVAHFMNA LRYDAMALGNHEFDNGVEGLIEPL LKEAKFPILSANIKAKGP LASQISGLYLPAKVLPVGDEVVGIVG YTSKETPFLSNPGTNLV FEDEITALQPEVDKLT NLNVNKIIALGHSGFEMDKLIAQKVR GVDVVVGHSNTFLYTGNPPSKEVPAG KYPFIVTSDDGRKV PVVQAYAFGKYLGYLKIEFDERGNV ISSHGNPILLNSSIPEDPS IKADINKWRIKLDNYSTQELGKTIVY LDGSSQSCRFRECNMG NLICDAMINNNLRHTDEMFWNHVSMC ILNGGGIRSPIDERNN GTITWENLAAVLPFGGTFDLVQLKGST LKKA FEHSVHRYGQ STGEFLQVGGIHVVYDLSRKPGDRV VKLDVLCTKCRVPSYD PLKMDEVYKVILPNFLANGGDGFQMIK DELLRHDSGDQDIN VVSTYISKMKVIYPAVEGRIKENLYFQ GLEHHHHHHHHHHHG GSGGLPETGGDR	60
CD73 humano P165A mutante con His-tag	WELTILHTNDVHSRLEQTS EDSSKCVNASRCMGGVARLFTK VQQIRRAEPNVLLLDAGDQYQGT IWFTVYKGAEVAHFMNA LRYDAMALGNHEFDNGVEGLIEPL LKEAKFPILSANIKAKGP LASQISGLYLPYKVLAVGDEVVGIVG YTSKETPFLSNPGTNL VFEDITALQPEVDKLT NLNVNKIIALGHSGFEMDKLIAQKV RGVDVVVGHSNTFLYTGNPPSKEVPAG KYPFIVTSDDGRK VPVVQAYAFGKYLGYLKIEFDERGNV ISSHGNPILLNSSIPED PSIKADINKWRIKLDNYSTQELGKTIVY LDGSSQSCRFRECN MGNLICDAMINNNLRHTDEMFWNHVSMC ILNGGGIRSPIDE RNNGTITWENLAAVLPFGGTFDLVQLKG STLKKA FEHSVHR YGQSTGEFLQVGGIHVVYDLSRKPGDR VVKLDVLCTKCRVP SYDPLKMDEVYKVILPNFLANGGDGFQMIK DELLRHDSGDQ DINVVSTYISKMKVIYPAVEGRIKENLYFQ GLEHHHHHHHHHHH HGGSGGLPETGGDR	139

CD73 humano D168A mutante con His-tag	WELTILHTNDVHSRLEQTS EDSSKCVNASRCMGGVARLFTK VQQIRRAEPNVLLLDAGDQYQGT IWFTVYKGAEVAHFMNA LRYDAMALGNHEFDNGVEGLIEPL LKEAKFPILSANIKAKGP LASQISGLYLPYKVLPGAEVVGIVG YTSKETPFLSNPGTNLV FEDEITALQPEVDKLT NLNVNKIIALGHSGFEMDKLIAQKVR GVDVVVGHSNTFLYTGNPPSKEVPAG KYPFIVTSDDGRKV PVVQAYAFGKYLGYLKIEFDERGNV ISSHGNPILLNSSIPEDPS IKADINKWRIKLDNYSTQELGKTIVY LDGSSQSCRFRECNMG NLICDAMINNNLRHTDEMFWNHVSMC ILNGGGIRSPIDERNN GTITWENLAAVLPFGGTFDLVQLKGST LKKAFEHSVHRYGQ STGEFLQVGGIHVVYDLSRKPGDRV VKLDVLCTKCRVPSYD PLKMDEVYKVILPNFLANGGDGFQMIK DELLRHDSGDQDIN VVSTYISKMKVIYPAVEGRIKENLYFQ GLEHHHHHHHHHHHG GSGGLPETGGDR	140
CD73 humano T198A mutante con His-tag	WELTILHTNDVHSRLEQTS EDSSKCVNASRCMGGVARLFTK VQQIRRAEPNVLLLDAGDQYQGT IWFTVYKGAEVAHFMNA LRYDAMALGNHEFDNGVEGLIEPL LKEAKFPILSANIKAKGP LASQISGLYLPYKVLPGDEVVGIVG YTSKETPFLSNPGTNLV FEDEIAALQPEVDKLT NLNVNKIIALGHSGFEMDKLIAQKVR GVDVVVGHSNTFLYTGNPPSKEVPAG KYPFIVTSDDGRKV PVVQAYAFGKYLGYLKIEFDERGNV ISSHGNPILLNSSIPEDPS IKADINKWRIKLDNYSTQELGKTIVY LDGSSQSCRFRECNMG NLICDAMINNNLRHTDEMFWNHVSMC ILNGGGIRSPIDERNN GTITWENLAAVLPFGGTFDLVQLKGST LKKAFEHSVHRYGQ STGEFLQVGGIHVVYDLSRKPGDRV VKLDVLCTKCRVPSYD PLKMDEVYKVILPNFLANGGDGFQMIK DELLRHDSGDQDIN VVSTYISKMKVIYPAVEGRIKENLYFQ GLEHHHHHHHHHHHG GSGGLPETGGDR	61
CD73 humano K274A mutante con His-tag	WELTILHTNDVHSRLEQTS EDSSKCVNASRCMGGVARLFTK VQQIRRAEPNVLLLDAGDQYQGT IWFTVYKGAEVAHFMNA LRYDAMALGNHEFDNGVEGLIEPL LKEAKFPILSANIKAKGP LASQISGLYLPYKVLPGDEVVGIVG YTSKETPFLSNPGTNLV FEDEITALQPEVDKLT NLNVNKIIALGHSGFEMDKLIAQKVR GVDVVVGHSNTFLYTGNPPSKEVPAG KYPFIVTSDDGRAV PVVQAYAFGKYLGYLKIEFDERGNV ISSHGNPILLNSSIPEDPS IKADINKWRIKLDNYSTQELGKTIVY LDGSSQSCRFRECNMG NLICDAMINNNLRHTDEMFWNHVSMC ILNGGGIRSPIDERNN GTITWENLAAVLPFGGTFDLVQLKGST LKKAFEHSVHRYGQ STGEFLQVGGIHVVYDLSRKPGDRV VKLDVLCTKCRVPSYD PLKMDEVYKVILPNFLANGGDGFQMIK DELLRHDSGDQDIN VVSTYISKMKVIYPAVEGRIKENLYFQ GLEHHHHHHHHHHHG GSGGLPETGGDR	62

CD73 humano S269A mutante con His-tag	WELTILHTNDVHSRLEQTS EDSSKCVNASRCMGGVARLFTK VQQIRRAEPNVLLLDAGDQYQGT IWFTVYKGAEVAHFMNALRYD AMALGNHEFDNGVEGLIEPLLKE AKFPILSANIKAKGPLASQISGL YLPYKVLPGDEVVGIVGYTSKET PFLSNPGTNLVFEDEITALQPE VDKLTNLNVNKIIALGHSGFEM DKLIAQKVRGVDVVVGHSNTFL YTGNNPPSKEVPAGKYPFIVT ADDGRKVPVVQAYAFGKYLGYL KIEFDERGNVISSHGPNILLNSS IPEDPSIKADINKWRIKLDNYST QELGKTIVYLDGSSQSCRFREC NMGNLICDAMINNNLRHTDEM FWNHVSMCILNGGGGIRSPID ERNNGTITWENLAAVLPFGGT FDLVQLKGSTLKKAFEHSVHRY GQSTGEFLQVGGIHVVYDLSR KPGDRVVKLDVLCTKCRVPSYD PLKMDEVYKVILPNFLANGGD GFQMIKDELLRHDSGDQDIN VVSTYISKMKVIYPAVEGRIK ENLYFQGLEHHHHHHHHHHG GSGGLPETGGDR	132
CD73 humano Y158A, Y161A, P165A, D168A mutante con His-tag	WELTILHTNDVHSRLEQTS EDSSKCVNASRCMGGVARLFTK VQQIRRAEPNVLLLDAGDQYQGT IWFTVYKGAEVAHFMNALRYD AMALGNHEFDNGVEGLIEPLLKE AKFPILSANIKAKGPLASQISGL ALPAKVLAVGAEEVVGIVGYTS KETPFLSNPGTNLVFEDEITAL QPEVDKLTNLNVNKIIALGHSG FEMDKLIAQKVRGVDVVVGHS NTFLYTGNNPPSKEVPAGKYPF IVTSDDGRKVPVVQAYAFGKY LGYLKIEFDERGNVISSHGPN ILLNSSIPEDPSIKADINKWRI KLDNYSTQELGKTIVYLDGSSQ SCRFRECNMGNLICDAMINNN LRHTDEMFWNHVSMCILNGGG GIRSPIDERNNGTITWENLAA VLPFGGTFDLVQLKGSTLKKAF EHSVHRYGQSTGEFLQVGGIH VVYDLSRKPGRVVKLDVLCTK CRVPSYDPLKMDEVYKVILPN FLANGGDGFQMIKDELLRHDS GDQDINVVSTYISKMKVIYPA VEGRIKENLYFQGLEHHHHHH HHHHHGGSGGLPETGGDR	133
CD73 humano Y158F, Y161S, P165S, D168G mutante con His-tag	WELTILHTNDVHSRLEQTS EDSSKCVNASRCMGGVARLFTK VQQIRRAEPNVLLLDAGDQYQGT IWFTVYKGAEVAHFMNALRYD AMALGNHEFDNGVEGLIEPLLKE AKFPILSANIKAKGPLASQISGL FLPSKVLVSGGEVVGIVGYTS KETPFLSNPGTNLVFEDEITAL QPEVDKLTNLNVNKIIALGHSG FEMDKLIAQKVRGVDVVVGHS NTFLYTGNNPPSKEVPAGKYPF IVTSDDGRKVPVVQAYAFGKY LGYLKIEFDERGNVISSHGPN ILLNSSIPEDPSIKADINKWRI KLDNYSTQELGKTIVYLDGSSQ SCRFRECNMGNLICDAMINNN LRHTDEMFWNHVSMCILNGGG GIRSPIDERNNGTITWENLAA VLPFGGTFDLVQLKGSTLKKAF EHSVHRYGQSTGEFLQVGGIH VVYDLSRKPGRVVKLDVLCTK CRVPSYDPLKMDEVYKVILPN FLANGGDGFQMIKDELLRHDS GDQDINVVSTYISKMKVIYPA VEGRIKENLYFQGLEHHHHHH HHHHHHGSGGLPETGGDR	134

CD73 humano S152H, Y158F, Y161S mutante con His-tag	WELTILHTNDVHSRLEQTS EDSSK CVNASRCMGGVARLFTK VQQIRRAEPNVLLLDAGDQYQGTIWFTVYKGAEVAHFMNA LRYDAMALGNHEFDNGVEGLIEPLLKEAKFPILSANIKAKGP LA HQISGLFLPSK VLPVGDEVVGIVGYTSKETPFLSNPGTNLV FEDEITALQPEVDKLKTLNVNKIIALGHSGFEMDKLIAQKVR GVDVVVG GH SNTFLYTGNPPSKEVPAGKYPPFIVTSDDGRKV PVVQAYAFGKYLGYLKIEFDERGNVISSHG NPILLNSSIPEDPS IKADINKWRIKLDNYSTQELGKTIVYLDGSSQSCRFRECNMG NLICDAMINNNLRHTDEMFWNHVSMCILNGGGGIRSPIDERNN GTITWENLA AVLPFGGT FDLVQLKGSTLKKAFEHSVHRYGQ STGEFLQVG GIHVVYDLSR KPGDRVVKLDVLCTKCRVPSYD PLKMDEVYKVILPNFLANGGDGFQMIKDELLRHDSGDQDIN VVSTYISKMKVIYPAVEGRIKENLYFQGLEHHHHHHHHHHG GSGGLPETGGDR	135
CD73 humano P165S, D168G mutante con His-tag	WELTILHTNDVHSRLEQTS EDSSK CVNASRCMGGVARLFTK VQQIRRAEPNVLLLDAGDQYQGTIWFTVYKGAEVAHFMNA LRYDAMALGNHEFDNGVEGLIEPLLKEAKFPILSANIKAKGP LASQISGLYLPYKVLSVG GEV VGIVGYTSKETPFLSNPGTNL VFED E ITALQPEVDKLKTLNVNKIIALGHSGFEMDKLIAQKV RGVDVVVG GH SNTFLYTGNPPSKEVPAGKYPPFIVTSDDGRK VPVVQAYAFGKYLGYLKIEFDERGNVISSHG NPILLNSSIPED PSIKADINKWRIKLDNYSTQELGKTIVYLDGSSQSCRFRECN MGNLICDAMINNNLRHTDEMFWNHVSMCILNGGGGIRSPIDE RNNGTITWENLA AVLPFGGT FDLVQLKGSTLKKAFEHSVHR YGQSTGEFLQVG GIHVVYDLSR KPGDRVVKLDVLCTKCRVP SYDPLKMDEVYKVILPNFLANGGDGFQMIKDELLRHDSGDQ DINVVSTYISKMKVIYPAVEGRIKENLYFQGLEHHHHHHHHHH HGGSGGLPETGGDR	136
CD73 de ratón I109A, G111R, H154S, F160Y, S163Y, S167P, G170D, S200T, D298E, K299R mutante con His-tag	WELTILHTNDVHSRLEQTSDDSTKCLNASLCVGGVARLFTK VQQIRKEE P NVFLDAGDQYQGTIWFTVYKGLEVAHFMNAL R YDAMALGNHEFDNGVEGLIDPLLRNVKFPILSANIKARGPL ASQISGLYLPYKVLPVG DE VVGIVGYTSKETPFLSNPGTNLVF EDEITALQPEVDKLKTLNVNKIIALGHSGFEMDKLIAQKVRG VDIVVG GH SNTFLYTGNPPSKEVPAGKYPPFIVTADDGRQVPV VQAYAFGKYLGYLKVEF DER GNVITSYGNPILLNSSIPEDATI KADINQWRIKLDNYSTQELGRTIVYLDGSTQTCRFRECNMG NLICDAMINNNLRHPDEMFWNHVSMCIVNGGGGIRSPIDEKN NGTITWENLA AVLPFGGT FDLVQLKGSTLKKAFEHSVHRYG QSTGEFLQVG GIHVVYDINR KPWNRVVQLEVLCTKCRVPIYE PLEMDKVYKVTLPSYLANGGDGFQMIKDELLKHDSGDQDIS VVSEYISKMKVVYPAVEGRIKENLYFQGLEHHHHHHHHHHH GGSGGLPETGGDR	137

CD73 de ratón S163Y, S167P, G170D mutante con His-tag	WELTILHTNDVHSRLEQTSDDSTKCLNASLCVGGVARLFTK VQQIRKEEPPNVFLFDAGDQYQGTIWFTVYKGLEVAHFMNIL GYDAMALGNHEFDNGVEGLIDPLLRNVKFPILSANIKARGPL AHQISGLFLPYKVLPGVDEVVGIVGYTSKETPFLSNPGTNL VF EDEISALQPEVDKLKTLNVNKHIALGHSGFEMDKLIAQKVRG VDIVVGGHSNTFLYTGNPPSKEVPAGKYPFIVTADDGRQVPV VQAYAFGKYLGYLKVEFDDKGNVITSYGNPILLNSSIPEDATI KADINQWRIKLDNYSTQELGRTIVYLDGSTQTCRFRECNMG NLICDAMINNNLRHPDEMFWNHVSMCIVNGGGIRSPIDEKN NGTITWENLAAVL PFGGTFDLVQLKGSTLKKAFEHSVHRYG QSTGEFLQVGGIHVVYDINRKPNRNVVQLEVLCTKCRVPIYE PLEMDKVYKVTLP SYLANGGDGFQMIKDELLKHDSGDQDIS VVSEYISKMKVVYPAVEGRIKENLYFQGLEHHHHHHHHHH GGSGGLPETGGDR	138
--	---	-----

Tabla 6. Ejemplos de secuencias de enlazadores, restos de unión a ligando y anticuerpos anti-CD73 que comprenden restos de unión a ligando *

Descripción	Secuencia de Aminoácidos	SEQ ID NO
Enlazador de péptidos 1	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSG	103
Enlazador de péptidos 2	GGGGSGGGGS	104
Enlazador de péptidos 3	GGGGSGGGGSGGGGS	105
Enlazador de péptidos 4	GGGGSG	106
Enlazador de péptidos 5	GSAGSAAGSGEF	107
Enlazador de péptidos 6	AEAAAKEAAKA	108
Variante 1 del dominio extracelular de TGFβR2 de la isoforma A de TGFβR2	IPPHVQKSDVEMEAQKDEIICPSCNRTAHPLRHINNDMIVTD NNGAVKFPQLCKFCDFRSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQE VCVAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAASPKCIM KEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPD	109
Variante 2 del dominio extracelular de TGFβR2 de la isoforma A de TGFβR2	TIPPHVQKSDVEMEAQKDEIICPSCNRTAHPLRHINNDMIVT DNNGAVKFPQLCKFCDFRSTCDNQKSCMSNCSITSICEKP QEVAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAASPKC IMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPDLLLVI FQ	110

Descripción	Secuencia de Aminoácidos	SEQ ID NO
Variante 3 del dominio extracelular de TGFβR2 de la isoforma B de TGFβR2	IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAAAPKCMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPD	111
Variante 4 del dominio extracelular de TGFβR2 de la isoforma B de TGFβR2	TIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAAAPKCMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPDLLLVIFQ	112
BA035 cadena pesada murina de longitud completa	XVKLVESGPELVKPGASVKISCKASGYAFSSSWINWVNQRP GKGLEWIGRIYPRNGDTNYNGKFKDRATLTADRSSSTAYLQ LSSLTSEDSAVYFCASLLDYSMDYWGQGTSTVTVSSAKTTAP SVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPAS STKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVL MISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQQT HREDYASTLRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPI ERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFM PEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVE KKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGGSGG GGSGGGGSIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCD VRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCAVWRKNDENITL ETVCHDPKLPYHDFILEDAAAPKCMKEKKKPGETFFMCSCS SDECNDNIIFSEEYNTSNPD, en donde X es E o piroglutamato	113
BA036 cadena pesada humanizada de longitud completa	XVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKASGYAFSSSWINWVRQM PGKGLEWMGRIYPRNGDTNYNGKFKDQVTISADKSISTAYL QWSSLKASDTAMYCASLLDYSMDYWGQGTSLTVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSGIPPHVQKSVNNDMIVTDNNG AVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAAAPKCMKEK KKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPD, en donde X es E o piroglutamato	114

Descripción	Secuencia de Aminoácidos	SEQ ID NO
BA037 cadena pesada humanizada de longitud completa	XVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKASGYAFSSSWINWVRQM PGKGLEWMGRIYPRAGDTNYAGKFKDQVTISADKSISTAYL QWSSLKASDTAMYYCASLLDYSMDYWGQGTLVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGG GGGSGGGSGGGSGGGSGGIPPHVQKSVNNDMIVTDNNG AVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCV AVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAAAPKCMKEK KKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPD, en donde X es E o piroglutamato	115
BA043 cadena pesada humanizada de longitud completa	XVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKASGYAFSSSWINWVRQM PGKGLEWMGRIYPRNGDTNYNGKFKDQVTISADKSISTAYL QWSSLKASDTAMYYCASLLDYSMDYWGQGTLVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGG GGGSGIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFST TCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCVAVWRKNDENITLETV CHDPKLPYHDFILEDAAAPKCMKEKKKPGETFFMCSCSSDE CNDNIIFSEEYNTSNPD, en donde X es E o piroglutamato	116
BA044 cadena pesada humanizada de longitud completa	XVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKASGYAFSSSWINWVRQM PGKGLEWMGRIYPRAGDTNYAGKFKDQVTISADKSISTAYL QWSSLKASDTAMYYCASLLDYSMDYWGQGTLVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGG GGGSGIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFST TCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCVAVWRKNDENITLETV CHDPKLPYHDFILEDAAAPKCMKEKKKPGETFFMCSCSSDE CNDNIIFSEEYNTSNPD, en donde X es E o piroglutamato	117

Descripción	Secuencia de Aminoácidos	SEQ ID NO
BA045 cadena pesada humanizada de longitud completa	XVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKASGYAFSSSWINWVRQM PGKGLEWMGRIYPRNGDTNYNGKFKDQVTISADKSISTAYL QWSSLKASDTAMYYCASLLDYSMDYWGQGTLTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGA EAAAKEAAAKAIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCK FCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCAVVRKNDE NITLETVCHDPKLPYHDFILEDAAAPKCIMKEKKKPGETFFM CSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPD, en donde X es E o piroglutamato	118
BA046 cadena pesada humanizada de longitud completa	XVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKASGYAFSSSWINWVRQM PGKGLEWMGRIYPRAGDTNYAGKFKDQVTISADKSISTAYL QWSSLKASDTAMYYCASLLDYSMDYWGQGTLTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGA EAAAKEAAAKAIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCK FCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCAVVRKNDE NITLETVCHDPKLPYHDFILEDAAAPKCIMKEKKKPGETFFM CSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPD, en donde X es E o piroglutamato	119

Descripción	Secuencia de Aminoácidos	SEQ ID NO
BA047 cadena pesada humanizada de longitud completa	XVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKASGYAFSSSWINWVRQM PGKGLEWMGRIYPRNGDTNYNGKFKDQVTISADKSISTAYL QWSSLKASDTAMYYCASLLDYSMDYWGQGTLTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGG SAGSAAGSGEFIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKF CDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCAVWRKNDEN ITLETVCHDPKLPYHDFILEDAAAPKCMKEKKKPGETFFMC SCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPD, en donde X es E o piroglutamato	120
Cadena pesada humanizada de longitud completa BA048	XVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKASGYAFSSSWINWVRQM PGKGLEWMGRIYPRAGDTNYAGKFKDQVTISADKSISTAYL QWSSLKASDTAMYYCASLLDYSMDYWGQGTLTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGG SAGSAAGSGEFIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKF CDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCAVWRKNDEN ITLETVCHDPKLPYHDFILEDAAAPKCMKEKKKPGETFFMC SCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPD, en donde X es E o piroglutamato	121
Dominio extracelular de VEGFR1 humano	SDTGRPFVEMYSEIPEIIHMTEGRELVIPCRVTSPNITVTLKKF PLDTLIPDGKRIIWDSRKGFIISNATYKEIGLLTCEATVNGHL YKTNYLTHRQTNT	122

Descripción	Secuencia de Aminoácidos	SEQ ID NO
BA038 cadena pesada de longitud completa (cadena pesada de anticuerpo murino + dominio extracelular de VEGFR1 humano)	XVKLVESGPELVKPGASVKISCKASGYAFSSSWINWVNQRP GKGLEWIGRIYPRNGDTNYNGKFKDRATLTADRSSSTAYLQ LSSLTSEDSAVYFCASLLDYSMDYWGQGTSTVTVSSAKTTAP SVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPAS STKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDV LMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQQT HREDYASTLRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPI ERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFM PEDIVVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVE KKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGGSGG GGSSDTGRPFVEMYSEIPEIIHMTEGRELVIPCRVTSPNITVTL KKFPLDTLIPDGKRIIWDSRKGFISNATYKEIGLLTCEATVN GHLYKTNLYLTHRQTNT, en donde X es E o piroglutamato	123
BA039 cadena pesada 1 de longitud completa (variable humanizada + constante murina + dominio extracelular VEGFR1 humano)	XVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKASGYAFSSSWINWVRQM PGKGLEWMGRIYPRNGDTNYNGKFKDQVTISADKSISTAYL QWSSLKASDTAMYVCASLLDYSMDYWGQGTSLTVTVSSAKT TAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSG SLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAH PASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKI KDVLMLISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQ TQTHREDYASTLRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDL PAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVT DFMPEDIVVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKL RVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGG SGGGGSSDTGRPFVEMYSEIPEIIHMTEGRELVIPCRVTSPNIT VTLKKFPLDTLIPDGKRIIWDSRKGFISNATYKEIGLLTCEAT VNGHLYKTNLYLTHRQTNT, en donde X es E o piroglutamato	124
BA040 cadena pesada 2 de longitud completa (variable humanizada + constante murina + dominio extracelular VEGFR1 humano)	XVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKASGYAFSSSWINWVRQM PGKGLEWMGRIYPRAGDTNYAGKFKDQVTISADKSISTAYL QWSSLKASDTAMYVCASLLDYSMDYWGQGTSLTVTVSSAKT TAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSG SLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAH PASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKI KDVLMLISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQ TQTHREDYASTLRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDL PAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVT DFMPEDIVVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKL RVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGG SGGGGSSDTGRPFVEMYSEIPEIIHMTEGRELVIPCRVTSPNIT VTLKKFPLDTLIPDGKRIIWDSRKGFISNATYKEIGLLTCEAT VNGHLYKTNLYLTHRQTNT, en donde X es E o piroglutamato	125

Descripción	Secuencia de Aminoácidos	SEQ ID NO
BA041 cadena pesada de longitud completa (humanizada)	XVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKASGYAFSSSWINWVRQM PGKGLEWMGRIYPRNGDTNYNGKFKDQVTISADKSISTAYL QWSSLKASDTAMYYCASLLDYSMDYWGQGTLLTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGG GGGSGGGGSSDTGRPFVEMYSEIPEIIHMTEGRELVIPCRVTS PNITVTLKKFPLDTLIPDGKRIIWDSRKGFIIISNATYKEIGLLT CEATVNGHLYKTNYLTHRQTNT, en donde X es E o piroglutamato	126
BA042 cadena pesada de longitud completa (humanizada)	XVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKASGYAFSSSWINWVRQM PGKGLEWMGRIYPRAGDTNYAGKFKDQVTISADKSISTAYL QWSSLKASDTAMYYCASLLDYSMDYWGQGTLLTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGG GGGSGGGGSSDTGRPFVEMYSEIPEIIHMTEGRELVIPCRVTS PNITVTLKKFPLDTLIPDGKRIIWDSRKGFIIISNATYKEIGLLT CEATVNGHLYKTNYLTHRQTNT, en donde X es E o piroglutamato	127
BA039 cadena ligera de longitud completa (quimérica; variable humanizada + constante murina)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPG KAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLPEDIAT YYCQQGNTLPLTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTS GGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQD SKDSTYSMSSTLTTLKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSF NRNEC	128

* En esta tabla, un polipéptido de un anticuerpo anti-CD73 que comprende un resto de unión a ligando se denomina cadena pesada de longitud completa si comprende una cadena pesada de longitud completa.

que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, de ratón o de *Cynomolgus*), el anticuerpo comprende un dominio VH que comprende una, dos o las tres CDR de un dominio VH establecido en la Tabla 1 de este documento. En ciertas realizaciones, el anticuerpo comprende la CDRH1 de un dominio VH establecido en la Tabla 1. En ciertas realizaciones, el anticuerpo comprende la CDRH2 de un dominio VH establecido en la Tabla 1. En ciertas realizaciones, el anticuerpo comprende la CDRH3 de una VH dominio establecido en la Tabla 1.

[00363] En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, de ratón o de *Cynomolgus*), el anticuerpo comprende un dominio VL que comprende una, dos o las tres CDR de un dominio VL descrito en la Tabla 1 de este documento. En ciertas realizaciones, el anticuerpo comprende la CDRL1 de un dominio VL establecido en la Tabla 1. En ciertas realizaciones, el anticuerpo comprende la CDRL2 de un dominio VL establecido en la Tabla 1. En ciertas realizaciones, el anticuerpo comprende la CDRL3 de una VL dominio establecido en la Tabla 1.

[00364] En determinadas formas de realización, las CDR de un anticuerpo pueden determinarse según Kabat et al., J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977) y Kabat et al., Sequences of protein of immunological interest (1991), cada una de las cuales se incorpora aquí como referencia en su totalidad. En determinadas realizaciones, las CDR de cadena ligera de un anticuerpo se determinan según Kabat y las CDR de cadena pesada de un anticuerpo se determinan según MacCallum (*supra*). En determinadas realizaciones, las CDR de cadena pesada y/o las CDR de cadena ligera se definen realizando un análisis estructural de un anticuerpo e identificando residuos en la región o regiones variables que se prevé que hagan contacto con una región de epítipo de una molécula diana (por ejemplo, CD73 humano y/o de *Cynomolgus*).

[00365] En determinadas realizaciones, las CDR de un anticuerpo se pueden determinar de acuerdo con el esquema de numeración de Chothia, que se refiere a la ubicación de los bucles estructurales de inmunoglobulina (véase, por ejemplo, Chothia C & Lesk AM, (1987), J Mol Biol 196: 901- 917; Al-Lazikani B et al., (1997) J Mol Biol 273: 927-948; Chothia C et al., (1992) J Mol Biol 227: 799-817; Tramontano A et al., (1990) J Mol Biol 215 (1): 175-82; y Patente de los Estados Unidos No. 7.709.226, todas las cuales se incorporan aquí como referencia en su totalidad). Normalmente, cuando se usa la convención de numeración de Kabat, los bucles de Chothia CDRH1 están presentes en los aminoácidos de la cadena pesada 26 a 32, 33, o 34, los bucles de Chothia CDRH2 están presentes en los aminoácidos de la cadena pesada 52 a 56 y los bucles de Chothia CDRH3 presente en los aminoácidos de la

cadena pesada 95 a 102, mientras que los bucles de Chothia CDRL1 están presentes en los aminoácidos de la cadena ligera 24 a 34, los bucles de Chothia CDRL2 están presentes en los aminoácidos de la cadena ligera 50 a 56, y los bucles de Chothia CDRL3 están presentes en los aminoácidos de la cadena ligera aminoácidos de cadena 89 a 97. El final del bucle de Chothia CDRH1 cuando se numera usando la convención de numeración de Kabat varía entre H32 y H34 dependiendo de la longitud del bucle (esto es porque el esquema de numeración de Kabat coloca las inserciones en H35A y H35B; si ni 35A ni 35B están presentes, el bucle termina en 32; si solo hay 35A, el bucle termina en 33; si están presentes tanto 35A como 35B, el bucle termina en 34).

[00366] En ciertas realizaciones, las CDR de un anticuerpo se pueden determinar de acuerdo con MacCallum RM *et al.*, (1996) J Mol Biol 262: 732-745, incorporados en el presente documento por referencia en su totalidad. Ver también, por ejemplo, Martin A. "Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains," en *Antibody Engineering*, Kontermann y Dübel, eds., Chapter 31, pp. 422-439, Springer-Verlag, Berlin (2001), incorporados en el presente documento por referencia en su totalidad.

[00367] En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende las CDR de la VH de Chothia de una VH divulgado en la Tabla 1 del presente documento. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende las CDR de la VL de Chothia de una VL divulgado en la Tabla 1 del presente documento. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende las CDR de la VH de Chothia y CDR de la VL de Chothia de un anticuerpo divulgado en la Tabla 1 del presente documento. En ciertas realizaciones, anticuerpos que se unen específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) comprenden una o más CDR, en el que las CDR de Chothia y Kabat tienen la misma secuencia de aminoácidos. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) y comprende combinaciones de CDR de Kabat y CDR de Chothia.

[00368] En ciertas realizaciones, las CDR de un anticuerpo se pueden determinar de acuerdo con el sistema de numeración IMGT como se describe en Lefranc M-P, (1999) The Immunologist 7: 132-136 y Lefranc M-P *et al.*, (1999) Nucleic Acids Res 27: 209-212, cada

uno de los cuales se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad. Según el esquema de numeración IMGT, CDRH1 está en las posiciones 26 a 35, CDRH2 está en las posiciones 51 a 57, CDRH3 está en las posiciones 93 a 102, CDRL1 está en las posiciones 27 a 32, CDRL2 está en las posiciones 50 a 52, y CDRL3 está en las posiciones 89 a 97. La numeración única IMGT también se puede definir como en Lefranc M-P *et al.*, (2009) Nucleic Acids Res 37: D1006-D1012 y la base de datos IMGT.

[00369] En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona anticuerpos que se unen específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) y comprende CDR de un anticuerpo divulgado en la Tabla 1 del presente documento, según lo determinado por el sistema de numeración IMGT, por ejemplo, como se describe en Lefranc M-P (1999) *supra* y Lefranc M-P *et al.*, (1999) *supra* o Lefranc M-P *et al.*, (2009) *supra*.

[00370] En ciertas realizaciones, las CDR de un anticuerpo se pueden determinar de acuerdo con el esquema de numeración AbM, que se refiere a regiones hipervariables de AbM, que representan un compromiso entre las CDR de Kabat y los bucles estructurales de Chothia, y son utilizadas por el software de modelado de anticuerpos AbM de Oxford Molecular (Oxford Molecular Group, Inc.), incorporado en el presente documento por referencia en su totalidad. En una realización particular, la presente divulgación proporciona anticuerpos que se unen específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) y comprenden CDR de un anticuerpo divulgado en la Tabla 1 del presente documento según lo determinado por el esquema de numeración AbM.

[00371] En ciertas realizaciones, las CDR de un anticuerpo se pueden determinar de acuerdo con el sistema de numeración AHO (como se describe en Honegger y Plückthun, A., J. Mol. Biol. 309:657-670 (2001), incorporado en el presente documento por referencia en su totalidad). En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona anticuerpos que se unen específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) y comprenden CDR de un anticuerpo divulgado en la Tabla 1 del presente documento según lo determinado por el esquema de numeración AHO.

[00372] En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), en donde el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende las secuencias de aminoácidos de las regiones CDRH1, CDRH2, y CDRH3 de un dominio VH establecido en SEQ ID NO: 19, 20, 21, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, o 30, y una región variable de cadena ligera que comprende las secuencias de aminoácidos de las regiones CDRL1, CDRL2, y CDRL3 de un dominio VL establecido en SEQ ID NO: 33, 34, 35, 37, 38, 39, o 40,

en donde cada CDR se define de acuerdo con la definición MacCallum, la definición Kabat, la definición Chothia, el sistema de numeración IMGT, la definición AbM de CDR, análisis estructural, o una combinación de los mismos, en donde el análisis estructural identifica residuos en la(s) región(es) variable(s) que se prevé que hagan contacto con una región del epítotope de CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus). En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), en donde el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende las secuencias de aminoácidos de las regiones CDRH1, CDRH2, y CDRH3 de un dominio VH, y una región variable de cadena ligera que comprende las secuencias de aminoácidos de las regiones CDRL1, CDRL2, y CDRL3 de un dominio VL, en donde el dominio VH y el dominio VL comprende las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID NOS: 19 y 33; 20 y 34; 21 y 35; 23 y 37; 24 y 37; 25 y 37; 26 y 37; 27 y 37; 28 y 37; 29 y 37; 30 y 37; 23 y 38; 24 y 38; 25 y 38; 26 y 38; 27 y 38; 28 y 38; 23 y 39; o, 23 y 40, respectivamente, y en donde cada CDR se define de acuerdo con la definición MacCallum, la definición Kabat, la definición Chothia, el sistema de numeración IMGT, la definición AbM de CDR, análisis estructural, o una combinación de los mismos, en donde el análisis estructural identifica residuos en la(s) región(es) variable(s) que se prevé que hagan contacto con una región del epítotope de CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus). En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) y comprende una combinación de CDR definida por la definición Kabat y CDR definidas por análisis estructural del anticuerpo, en donde el análisis estructural identifica residuos en la(s) región(es) variable(s) que se prevé que hagan contacto con una región del epítotope de CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus).

[00373] En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende las seis CDR presentes en el anticuerpo BA025 divulgado en el presente documento, como se define por uno o más de los esquemas de numeración de anticuerpos de Kabat, IMGT (por ejemplo, IMGT unique), AHo o Chothia. En ciertas realizaciones, el anticuerpo comprende al menos una, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, o al menos cinco de las CDR presentes en el anticuerpo BA025. Las CDR Kabat, IMGT única, Aho, y Chothia del anticuerpo BA025 se proporcionan en la Tabla 1 del presente documento.

[00374] En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado

que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende las seis CDR presentes en el anticuerpo BA020 divulgado en el presente documento, como se define por uno o más de los esquemas de numeración de anticuerpos de Kabat, IMGT (por ejemplo, IMGT unique), AHo o Chothia. En ciertas realizaciones, el anticuerpo comprende al menos una, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, o al menos cinco de las CDR presentes en el anticuerpo BA020. Las CDR Kabat, IMGT unique, Aho, y Chothia del anticuerpo BA020 se proporcionan en la Tabla 1 del presente documento.

[00375] En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende:

(a) CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de $X_1X_2WX_3X_4$ (SEQ ID NO: 13), en donde

X_1 es S o N;
 X_2 es S o Y;
 X_3 es I o M; y
 X_4 es N o H;

(b) CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de $X_1IYPRX_2X_3DTNYX_4X_5KFKX_6$ (SEQ ID NO: 14), en donde

X_1 es R o T;
 X_2 es N, A, o S;
 X_3 es G o S;
 X_4 es N, A, o S;
 X_5 es G o Q; y
 X_6 es D o G;

(c) CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de LLDYSMDY (SEQ ID NO: 7);

(d) CDRL1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQDISX₁X₂LN (SEQ ID NO: 16), en donde

X_1 es N o I; y
 X_2 es Y o S;

(e) CDRL2 comprende la secuencia de aminoácidos de YTSRLHS (SEQ ID NO: 10); y/o

(f) CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQGNTLPXT (SEQ ID NO: 17), en donde

X es L o W.

[00376] En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende:

- (a) CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de SSWIN (SEQ ID NO: 2);
- 5 (b) CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de RIYPRX₁GDTNYX₂GKFKD (SEQ ID NO: 15), en donde
 - X₁ es N, A, o S; y
 - X₂ es N, A, o S;
- (c) CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de LLDYSMDY (SEQ ID NO: 7);
- 10 (d) CDRL1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQDISX₁X₂LN (SEQ ID NO: 16), en donde
 - X₁ es N o I; y
 - X₂ es Y o S;
- (e) CDRL2 comprende la secuencia de aminoácidos de YTSRLHS (SEQ ID NO: 10); y/o
- 15 (f) CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQGNTLPLT (SEQ ID NO: 12)

[00377] En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), en donde el anticuerpo comprende un dominio VH que comprende las secuencias de aminoácidos CDRH1, CDRH2 y CDRH3 establecidas en SEQ ID NOs: 1, 3, y 7, respectivamente. En ciertas

20 realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), en donde el anticuerpo comprende un dominio VH que comprende las secuencias de aminoácidos CDRH1, CDRH2 y CDRH3 establecidas en SEQ ID NOs: 2, 4, y 7, respectivamente. En ciertas

25 realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), en donde el anticuerpo comprende un dominio VH que comprende las secuencias de aminoácidos CDRH1, CDRH2 y CDRH3 establecidas en SEQ ID NOs: 2, 5, y 7, respectivamente. En ciertas

30 realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), en donde el anticuerpo comprende un dominio VL que comprende las secuencias de aminoácidos CDRL1,

CDRL2 y CDRL3 establecidas en SEQ ID NOs: 8, 10, y 11, respectivamente. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), en donde el anticuerpo comprende un dominio VL que comprende las secuencias de aminoácidos CDRL1, CDRL2 y CDRL3 establecidas en SEQ ID NOs: 9, 10, y 12, respectivamente. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), en donde el anticuerpo comprende un dominio VL que comprende las secuencias de aminoácidos CDRL1, CDRL2 y CDRL3 establecidas en SEQ ID NOs: 8, 10, y 12, respectivamente.

10 **[00378]** En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), en donde el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende regiones CDRH1, CDRH2, y CDRH3, y una región variable de cadena ligera que comprende regiones CDRL1, CDRL2, y CDRL3, en donde las regiones CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, y CDRL3 comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID NOs: 1, 3, 7, 8, 10, y 11, respectivamente. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), en donde el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende regiones CDRH1, CDRH2, y CDRH3, y una región variable de cadena ligera que comprende regiones CDRL1, CDRL2, y CDRL3, en donde las regiones CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, y CDRL3 comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID NOs: 2, 4, 7, 8, 10, y 11, respectivamente. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), en donde el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende regiones CDRH1, CDRH2, y CDRH3, y una región variable de cadena ligera que comprende regiones CDRL1, CDRL2, y CDRL3, en donde las regiones CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, y CDRL3 comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID NOs: 2, 4, 7, 8, 10, y 12, respectivamente. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), en donde el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende regiones CDRH1, CDRH2, y CDRH3, y una región variable de cadena ligera que comprende regiones CDRL1, CDRL2, y CDRL3, en donde las regiones CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, y CDRL3 comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas

en SEQ ID NOs: 2, 4, 7, 9, 10, y 12, respectivamente. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), en donde el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende regiones CDRH1, CDRH2, y CDRH3, y una región variable de cadena ligera que comprende regiones CDRL1, CDRL2, y CDRL3, en donde las regiones CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, y CDRL3 comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID NOs: 2, 5, 7, 8, 10, y 12, respectivamente. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), en donde el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende regiones CDRH1, CDRH2, y CDRH3, y una región variable de cadena ligera que comprende regiones CDRL1, CDRL2, y CDRL3, en donde las regiones CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, y CDRL3 comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID NOs: 2, 6, 7, 8, 10, y 12, respectivamente. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), en donde el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende regiones CDRH1, CDRH2, y CDRH3, y una región variable de cadena ligera que comprende regiones CDRL1, CDRL2, y CDRL3, en donde las regiones CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, y CDRL3 comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID NOs: 2, 5, 7, 9, 10, y 12, respectivamente. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), en donde el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende regiones CDRH1, CDRH2, y CDRH3, y una región variable de cadena ligera que comprende regiones CDRL1, CDRL2, y CDRL3, en donde las regiones CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, y CDRL3 comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID NOs: 2, 6, 7, 9, 10, y 12, respectivamente.

[00379] En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), que comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 31. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 19-21 y 23-30. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une

específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, o 100% (por ejemplo, al menos 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 o 99%) idéntica a la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 19-21 y 23-30.

[00380] En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), que comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41 o 42. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), que comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 33-35 y 37-40. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), que comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, o 100% (por ejemplo, al menos 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 o 99%) idéntica a la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 33-35 y 37-40.

[00381] En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), que comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 31 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41 o 42. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 19-21 y 23-30, y una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 33-35 y 37-40. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, o 100% (por ejemplo, al menos 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 o 99%) idéntica a la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 19-21 y 23-30, y una región variable de cadena ligera que

comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, o 100% (por ejemplo, al menos 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 o 99%) idéntica a la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 33-35 y 37-40.

- 5 **[00382]** En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), que comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que comprende las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID NOs: 19 y 33; 20 y 34; 21 y 35; 23 y 37; 24 y 37; 25 y 37; 26 y 37; 27 y 37; 28 y 37; 29 y 37; 30 y 37; 23 y 38; 24 y 38; 10 25 y 38; 26 y 38; 27 y 38; 28 y 38; 23 y 39; o, 23 y 40, respectivamente. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19, y una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 33.
- 15 En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20, y una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 34. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona
- 20 un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21, y una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 35. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73
- 25 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23, y una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 37. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), que comprende
- 30 una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24, y una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 37. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una

secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23, y una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), que comprende una región variable de

5 cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24, y una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ

10 ID NO: 25, y una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 37. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26, y una región variable de cadena ligera que

15 comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 37. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27, y una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 37.

20 En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28, y una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 37. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una

25 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25, y una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), que comprende una región variable de

30 cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26, y una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), que comprende

una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27, y una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28, y una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29, y una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 37. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 30, y una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 37. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23, y una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 39. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23, y una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40.

[00383] En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), que comprende una región variable de cadena pesada una secuencia de línea germinal de IgHV1S12 murina. En ciertas realizaciones, la secuencia de línea germinal de IgHV1S12 murina está establecida en SEQ ID NO: 18. Una o más regiones seleccionadas del marco de referencia 1, el marco de referencia 2, el marco de referencia 3, CDRH1, y CDRH2 (por ejemplo, dos, tres, cuatro o cinco de estas regiones) puede derivarse de una secuencia de línea germinal de IgHV1S12 murina. En una realización, el marco de referencia 1, el marco de referencia 2, el marco de referencia 3, CDRH1, y CDRH2 se derivan todos de una secuencia de línea germinal de IgHV1S12 murina. En ciertas realizaciones, la región variable de cadena pesada comprende

una CDRH3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 7.

[00384] En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), que comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal de IgKV10-96 murina. En ciertas realizaciones, la secuencia de línea germinal de IgKV10-96 murina está establecida en SEQ ID NO: 32. Una o más regiones seleccionadas del marco de referencia 1, el marco de referencia 2, el marco de referencia 3, CDRL1, y CDRL2 (por ejemplo, dos, tres, cuatro o cinco de estas regiones) puede derivarse de una secuencia de línea germinal murina de IgKV10-96. En una realización, el marco de referencia 1, el marco de referencia 2, el marco de referencia 3, CDRL1, y CDRL2 se derivan todos de una secuencia de línea germinal murina de IgKV10-96. En ciertas realizaciones, la región variable de cadena ligera comprende una CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 11 o 12.

[00385] En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal de IgHV1S12 murina (por ejemplo, SEQ ID NO: 18); y una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal murina derivada de una secuencia de línea germinal de IgKV10-96 murina (por ejemplo, SEQ ID NO: 32). En ciertas realizaciones, la región variable de cadena pesada comprende una CDRH3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 7, y la región variable de cadena ligera comprende una CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 11 o 12.

[00386] En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal de IgHV5-51 humana. En ciertas realizaciones, la secuencia de línea germinal de IgHV5-51 humana es una secuencia de línea germinal de IgHV5-51*02 humana (por ejemplo, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22). Una o más regiones seleccionadas del marco de referencia 1, el marco de referencia 2, el marco de referencia 3, CDRH1, y CDRH2 (por ejemplo, dos, tres, cuatro o cinco de estas regiones) puede derivarse de una secuencia de línea germinal de IgHV5-51 humana. En una realización, el marco de referencia 1, el marco de referencia 2, el marco de referencia 3, CDRH1, y CDRH2 se derivan todos de una secuencia de línea germinal de IgHV5-51 humana.

En ciertas realizaciones, la región variable de cadena pesada comprende una CDRH3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 7.

[00387] En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), que
 5 comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal de IGKV1-33 humana (por ejemplo, IGKV1-33*01, por ejemplo, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 36). Una o más regiones seleccionadas del marco de referencia 1, el marco de referencia 2, el marco de referencia 3, CDRL1, y CDRL2 (por ejemplo, dos, tres, cuatro o cinco de estas regiones) puede
 10 derivarse de una secuencia de línea germinal humana seleccionada del grupo que consiste en IGKV1-33 (por ejemplo, IGKV1-33*01, por ejemplo, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 36). En una realización, el marco de referencia 1, el marco de referencia 2, el marco de referencia 3, CDRL1, y CDRL2 se derivan todos de una secuencia de línea germinal de IGKV1-33 humana (por ejemplo, IGKV1-33*01, por ejemplo, que
 15 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 36). En ciertas realizaciones, la región variable de cadena ligera comprende una CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 12.

[00388] En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), que
 20 comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal de IgHV5-51 humana (por ejemplo, una secuencia de línea germinal de IgHV5-51*02 humana, por ejemplo, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22); y una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal de IGKV1-33 humana
 25 (por ejemplo, IGKV1-33*01, por ejemplo, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 36). En ciertas realizaciones, la región variable de cadena pesada comprende una CDRH3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 7, y la región variable de cadena ligera comprende una CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 12.

[00389] En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que compite de forma cruzada por unirse a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) con cualquiera de los anticuerpos anti-CD73 divulgados en el presente documento, incluyendo un anticuerpo que comprende las secuencias de aminoácidos de la
 30 región variable de la cadena pesada y de la región variable de la cadena ligera establecidas en

SEQ ID NOs: 19 y 33; 20 y 34; 21 y 35; 23 y 37; 24 y 37; 25 y 37; 26 y 37; 27 y 37; 28 y 37; 29 y 37; 30 y 37; 23 y 38; 24 y 38; 25 y 38; 26 y 38; 27 y 38; 28 y 38; 23 y 39; o, 23 y 40, respectivamente. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que compite de forma cruzada por unirse a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) con un anticuerpo que comprende las secuencias de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada y ligera establecidas en SEQ ID NOs: 24 y 37, respectivamente. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que compite de forma cruzada por unirse a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) con un anticuerpo que comprende las secuencias de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada y ligera establecidas en SEQ ID NOs: 27 y 37, respectivamente.

[00390] En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une al mismo o un epítoto superpuesto de CD73 (por ejemplo, un epítoto de CD73 humano, ratón, o cynomolgus) como un anticuerpo descrito en el presente documento, por ejemplo, un anticuerpo que comprende las secuencias de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada y ligera establecidas en SEQ ID NOs: 19 y 33; 20 y 34; 21 y 35; 23 y 37; 24 y 37; 25 y 37; 26 y 37; 27 y 37; 28 y 37; 29 y 37; 30 y 37; 23 y 38; 24 y 38; 25 y 38; 26 y 38; 27 y 38; 28 y 38; 23 y 39; o, 23 y 40, respectivamente. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une al mismo o un epítoto superpuesto de CD73 (por ejemplo, un epítoto de humano, ratón, o un epítoto de CD73 cynomolgus) como un anticuerpo descrito en el presente documento, por ejemplo, un anticuerpo que comprende las secuencias de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada y ligera establecidas en SEQ ID NOs: 24 y 37, respectivamente. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une al mismo o un epítoto superpuesto de CD73 (por ejemplo, un epítoto de humano, ratón, o un epítoto de CD73 cynomolgus) como un anticuerpo descrito en el presente documento, por ejemplo, un anticuerpo que comprende las secuencias de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada y ligera establecidas en SEQ ID NOs: 27 y 37, respectivamente. En ciertas realizaciones, el epítoto de un anticuerpo puede determinarse por, por ejemplo, espectroscopia de RMN, resonancia de plasmón de superficie (BIAcore®), estudios de cristalografía de difracción de rayos X, ensayos de ELISA, intercambio de hidrógeno/deuterio junto con espectrometría de masas (por ejemplo, espectrometría de masas por electrospray de cromatografía líquida), ensayos de barrido de oligopéptidos basados en matrices y/o mapeo de mutagénesis (por ejemplo, mapeo de mutagénesis dirigida al sitio). Para la cristalografía de rayos X, la cristalización se puede lograr usando cualquiera de los métodos conocidos en la técnica (por ejemplo, Giegé R *et al.*, (1994)

Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 50(Pt 4): 339-350; McPherson A (1990) Eur J Biochem 189: 1-23; Chayen NE (1997) Structure 5: 1269-1274; McPherson A (1976) J Biol Chem 251: 6300-6303, todos los cuales se incorporan en el presente documento como referencia en su totalidad). Anticuerpo: los cristales de antígeno se pueden estudiar usando técnicas de

5 difracción de rayos X bien conocidas y se pueden refinar usando software de computadora como X-PLOR (Yale University, 1992, distribuido por Molecular Simulations, Inc.; *ver*, por ejemplo, Meth Enzymol (1985) volúmenes 114 & 115, eds Wyckoff HW *et al.*; Solicitud de Patente de EE.UU. No. 2004/0014194), y BUSTER (Bricogne G (1993) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 49(Pt 1): 37-60; Bricogne G (1997) Meth Enzymol 276A: 361-423, ed Carter

10 CW; Roversi P *et al.*, (2000) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 56(Pt 10): 1316-1323, todos los cuales se incorporan en el presente documento como referencia en su totalidad). Los estudios de mapeo de mutagénesis se pueden realizar usando cualquier método conocido por un experto en la técnica. *Ver*, por ejemplo, Champe M *et al.*, (1995) *supra* y Cunningham BC & Wells JA (1989) *supra* para obtener una descripción de las técnicas de mutagénesis, incluida

15 las técnicas de mutagénesis por barrido de alanina. En una realización específica, el epítipo de un anticuerpo se determina usando estudios de mutagénesis de exploración con alanina. Además, los anticuerpos que reconocen y se unen a los mismos epítopes de CD73 o superpuestos (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) pueden identificarse usando técnicas de rutina tales como un inmunoensayo, por ejemplo, mostrando la capacidad de un

20 anticuerpo para bloquear la unión de otro anticuerpo a un antígeno diana, es decir, un ensayo de unión competitiva. Los ensayos de unión competitiva también se pueden usar para determinar si dos anticuerpos tienen una especificidad de unión similar para un epítipo. La unión competitiva se puede determinar en un ensayo en el que la inmunoglobulina bajo prueba inhibe la unión específica de un anticuerpo de referencia a un antígeno común, como CD73.

25 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus). Se conocen numerosos tipos de ensayos de unión competitiva, por ejemplo: radioinmunoensayo directo o indirecto (RIA) en fase sólida, inmunoensayo enzimático directo o indirecto (EIA) en fase sólida, ensayo de competencia en sándwich (*ver* Stahli C *et al.*, (1983) Methods Enzymol 9: 242-253); EIA biotina-avidina directa en fase sólida (*ver* Kirkland TN *et al.*, (1986) J Immunol 137: 3614-9); ensayo de fase

30 sólida de marcado directo, ensayo sándwich de fase sólida de marcado directo (*ver* Harlow E & Lane D, (1988) Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press); RIA de marcado directa en fase sólida con etiqueta I-125 (*ver* Morel GA *et al.*, (1988) Mol Immunol 25(1): 7-15); EIA biotina-avidina directa en fase sólida (*ver* Cheung RC *et al.*, (1990) Virology 176: 546-52); y RIA de marcado directo (*ver* Moldenhauer G *et al.*, (1990) Scand J Immunol

32: 77-82), todos los cuales se incorporan en el presente documento como referencia en su totalidad. Normalmente, dicho ensayo implica el uso de antígeno purificado. (por ejemplo, CD73, tales como CD73 humano, ratón, o cynomolgus) unido a una superficie sólida o células que portan cualquiera de estos, una inmunoglobulina de prueba sin marcar y una
 5 inmunoglobulina de referencia marcada. La inhibición competitiva se puede medir determinando la cantidad de marcador unido a la superficie sólida o células en presencia de la inmunoglobulina de prueba. Por lo general, la inmunoglobulina de prueba está presente en exceso. Por lo general, cuando un anticuerpo competidor está presente en exceso, inhibirá la unión específica de un anticuerpo de referencia a un antígeno común por al menos 50-55%, 55-
 10 60%, 60-65%, 65-70%, 70-75% o más. Se puede configurar un ensayo de unión competitiva en un gran número de formatos diferentes utilizando antígeno marcado o anticuerpo marcado. En una versión común de este ensayo, el antígeno se inmoviliza en una placa de 96 pozos. A continuación, se mide la capacidad de los anticuerpos no marcados para bloquear la unión de los anticuerpos marcados al antígeno utilizando marcadores radiactivos o enzimáticos. Para
 15 más detalles ver, por ejemplo, Wagener C *et al.*, (1983) J Immunol 130: 2308-2315; Wagener C *et al.*, (1984) J Immunol Methods 68: 269-274; Kuroki M *et al.*, (1990) Cancer Res 50: 4872-4879; Kuroki M *et al.*, (1992) Immunol Invest 21: 523-538; Kuroki M *et al.*, (1992) Hybridoma 11: 391-407 y Antibodies: A Laboratory Manual, Ed Harlow E & Lane D editors *supra*, pp. 386-389, todos los cuales se incorporan en el presente documento como referencia en su
 20 totalidad.

[00391] Se puede usar cualquier región constante de inmunoglobulina (Ig) en los anticuerpos divulgado en el presente documento. En ciertas realizaciones, la región Ig es una molécula de inmunoglobulina IgG, IgE, IgM, IgD, IgA o IgY humana, de cualquier clase (por ejemplo, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁, y IgA₂), o cualquier subclase (por ejemplo, IgG_{2a} y
 25 IgG_{2b}) de molécula de inmunoglobulina.

[00392] En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una región constante de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, o 58.
 30 En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una región constante de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 89 o 93.

- [00393]** En ciertas realizaciones, una, dos o más mutaciones (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos) se introducen en una región Fc de un anticuerpo descrito en el presente documento (por ejemplo, dominio CH2 (residuos 231-340 de IgG₁ humano) y/o dominio CH3 (residuos 341-447 de IgG₁ humano) y/o la región bisagra, numerados según el sistema de numeración de la UE, para alterar una o más propiedades funcionales del anticuerpo, como la vida media en suero, fijación del complemento, unión al receptor Fc y/o citotoxicidad celular dependiente de antígeno.
- [00394]** En ciertas realizaciones, una, dos o más mutaciones (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos) se introducen en la región bisagra de la región Fc (dominio CH1) tal que se altere el número de residuos de cisteína en la región bisagra (por ejemplo, aumentado o disminuido) como se describe en, por ejemplo, Patente EE.UU. No. 5,677,425, incorporados en el presente documento por referencia en su totalidad. El número de residuos de cisteína en la región bisagra del dominio CH1 puede alterarse para, por ejemplo, facilitar el ensamblaje de las cadenas ligera y pesada, o para alterar (por ejemplo, aumentar o disminuir) la estabilidad del anticuerpo.
- [00395]** En una realización específica, una, dos o más mutaciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones, inserciones o eliminaciones) se introducen en un dominio constante de IgG, o un fragmento de unión a FcRn del mismo (preferiblemente un fragmento de dominio Fc o bisagra-Fc) para alterar (por ejemplo, disminuir o aumentar) la vida media del anticuerpo *in vivo*. Ver, por ejemplo, Publicación Internacional Nos. WO 02/060919; WO 98/23289; y WO 97/34631; y Patente EE.UU. Nos. 5,869,046, 6,121,022, 6,277,375 y 6,165,745, todos los cuales se incorporan en el presente documento como referencia en su totalidad, para ver ejemplos de mutaciones que alterarán (por ejemplo, disminuir o aumentar) la vida media de un anticuerpo *in vivo*. En ciertas realizaciones, una, dos o más mutaciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones, inserciones o deleciones) se introducen en un dominio constante de IgG, o un fragmento de unión a FcRn del mismo (preferiblemente un fragmento de dominio Fc o bisagra-Fc) para disminuir la vida media del anticuerpo *in vivo*. En otras realizaciones, una, dos o más mutaciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones, inserciones o eliminaciones) se introducen en un dominio constante de IgG, o un fragmento de unión a FcRn del mismo (preferiblemente un fragmento de dominio Fc o bisagra-Fc) para aumentar la vida media del anticuerpo *in vivo*. En una realización específica, los anticuerpos pueden tener una o más mutaciones de aminoácidos (por ejemplo, substituciones) en el segundo dominio constante (CH2) (residuos 231-340 de humano IgG₁) y/o el tercer dominio constante (CH3) (residuos 341-447 de humano IgG₁), numerados según el sistema de numeración de la UE. En una realización específica, la región constante de la IgG₁ de un anticuerpo descrito en el presente

documento comprende una sustitución de metionina (M) a tirosina (Y) en la posición 252, una sustitución de serina (S) a treonina (T) en la posición 254 y una sustitución de treonina (T) a ácido glutámico (E) en la posición 256, numerados según el sistema de numeración de la UE. *Ver* Patente EE.UU. No. 7,658,921, el cual se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad. Se ha demostrado que este tipo de IgG mutante, denominado "mutante YTE", muestra una vida media cuatro veces mayor en comparación con las versiones de tipo silvestre del mismo anticuerpo (*ver* Dall'Acqua WF *et al.*, (2006) J Biol Chem 281: 23514-24, el cual se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad). En ciertas realizaciones, un anticuerpo comprende un dominio constante de IgG que comprende una, dos, tres o más sustituciones de aminoácidos de residuos de aminoácidos en posiciones 251-257, 285-290, 308-314, 385-389, y 428-436, numerados según el sistema de numeración de la UE.

[00396] En ciertas realizaciones, una, dos o más mutaciones (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos) se introducen en una región Fc de un anticuerpo descrito en el presente documento (por ejemplo, dominio CH2 (residuos 231-340 de humano IgG₁) y/o dominio CH3 (residuos 341-447 de humano IgG₁) y/o la región bisagra, numerados según el sistema de numeración de la UE, para aumentar o disminuir la afinidad del anticuerpo para un receptor Fc (por ejemplo, un receptor Fc activado) en la superficie de una célula efectora. Las mutaciones en la región Fc de un anticuerpo que disminuyen o aumentan la afinidad de un anticuerpo por un receptor Fc y las técnicas para introducir tales mutaciones en el receptor Fc o en un fragmento del mismo son conocidas por los expertos en la técnica. Se describen ejemplos de mutaciones en el receptor Fc de un anticuerpo que pueden producirse para alterar la afinidad del anticuerpo por un receptor Fc en, por ejemplo, Smith P *et al.*, (2012) PNAS 109: 6181-6186, Patente EE.UU. No. 6,737,056, y Publicación Internacional Nos. WO 02/060919; WO 98/23289; y WO 97/34631, todos los cuales se incorporan en el presente documento como referencia en su totalidad.

[00397] En ciertas realizaciones, el anticuerpo comprende una región constante de cadena pesada que es una variante de una región constante de cadena pesada de tipo salvaje, en la que la región constante de cadena pesada variante se une a FcγRIIB con mayor afinidad que la región constante de cadena pesada de tipo salvaje se une a FcγRIIB. En ciertas realizaciones, la región constante de cadena pesada variante es una región constante de cadena pesada humana variante, por ejemplo, una IgG1 humana variante, una IgG2 humana variante o una región constante de cadena pesada de IgG4 variante humana. En ciertas realizaciones, la región constante de la cadena pesada de IgG humana variante comprende una o más de las siguientes

mutaciones de aminoácidos, de acuerdo con el sistema de numeración de la UE: G236D, P238D, S239D, S267E, L328F, y L328E. En ciertas realizaciones, la región constante de la cadena pesada de IgG humana variante comprende un conjunto de mutaciones de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en: S267E y L328F; P238D y L328E; P238D y una o más sustituciones seleccionadas del grupo que consiste en E233D, G237D, H268D, P271G, y A330R; P238D, E233D, G237D, H268D, P271G, y A330R; G236D y S267E; S239D y S267E; V262E, S267E, y L328F; y V264E, S267E, y L328F, de acuerdo con el sistema de numeración de la UE. En ciertas realizaciones, el FcyRIIB se expresa en una célula seleccionada del grupo que consta de macrófagos, monocitos, células B, células dendríticas, células endoteliales y células T activadas.

[00398] En una realización adicional, se introducen una, dos o más sustituciones de aminoácidos en una región Fc de dominio constante de IgG para alterar la función o funciones efectoras del anticuerpo. Por ejemplo, uno o más aminoácidos seleccionados de residuos de aminoácidos 234, 235, 236, 237, 239, 243, 267, 292, 297, 300, 318, 320, 322, 328, 330, 332, y 396, numerados según el sistema de numeración de la UE, se puede reemplazar con un residuo de aminoácido diferente de modo que el anticuerpo tenga una afinidad alterada por un ligando efector pero conserve la capacidad de unión al antígeno del anticuerpo original. El ligando efector al que se altera la afinidad puede ser, por ejemplo, un receptor Fc o el componente C1 del complemento. Este enfoque se describe con más detalle en Patente EE.UU. Nos. 5,624,821 y 5,648,260, cada uno de los cuales se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad. En ciertas realizaciones, la eliminación o inactivación (a través de mutaciones puntuales u otros medios) de un dominio de región constante puede reducir la unión al receptor Fc del anticuerpo circulante aumentando así la localización del tumor. *Ver*, por ejemplo, Patente EE.UU. Nos. 5,585,097 y 8,591,886, cada uno de los cuales se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad, para obtener una descripción de las mutaciones que eliminan o inactivan el dominio constante y, por lo tanto, aumentan la localización del tumor. En ciertas realizaciones, una o más sustituciones de aminoácidos puede introducirse en la región Fc de un anticuerpo descrito en el presente documento para eliminar los sitios de glicosilación potenciales en la región Fc, lo que puede reducir la unión del receptor Fc (*ver*, por ejemplo, Shields RL *et al.*, (2001) J Biol Chem 276: 6591-604, el cual se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad). En varias realizaciones, puede hacerse una o más de las siguientes mutaciones en la región constante de un anticuerpo descrito en el presente documento: una sustitución N297A ; una sustitución N297Q ; una sustitución L234A ; una sustitución L234F ; una sustitución L235A ; una sustitución L235F ; una sustitución

L235V ; una sustitución L237A ; una sustitución S239D ; una sustitución E233P ; una sustitución L234V ; una sustitución L235A ; una delección C236; una sustitución P238A ; una sustitución S239D ; una sustitución F243L ; una sustitución D265A ; una sustitución S267E ; una sustitución L328F ; una sustitución R292P ; una sustitución Y300L ; una sustitución A327Q ; una sustitución P329A ; una sustitución A332L ; una sustitución I332E ; o una sustitución P396L, numerados según el sistema de numeración de la UE.

[00399] En ciertas realizaciones, una mutación seleccionada del grupo que consiste en D265A, P329A, y una combinación de los mismos, numerados según el sistema de numeración de la UE, puede hacerse en la región constante de un anticuerpo descrito en el presente documento. En ciertas realizaciones, una mutación seleccionada del grupo que consiste en L235A, L237A, y una combinación de los mismos, numerados según el sistema de numeración de la UE, puede hacerse en la región constante de un anticuerpo descrito en el presente documento. En ciertas realizaciones, una mutación seleccionada del grupo que consiste en S267E, L328F, y una combinación de los mismos, numerados según el sistema de numeración de la UE, puede hacerse en la región constante de un anticuerpo descrito en el presente documento. En ciertas realizaciones, una mutación seleccionada del grupo que consiste en S239D, I332E, opcionalmente A330L, y una combinación de los mismos, numerados según el sistema de numeración de la UE, puede hacerse en la región constante de un anticuerpo descrito en el presente documento. En ciertas realizaciones, una mutación seleccionada del grupo que consiste en L235V, F243L, R292P, Y300L, P396L, y una combinación de los mismos, numerados según el sistema de numeración de la UE, puede hacerse en la región constante de un anticuerpo descrito en el presente documento. En ciertas realizaciones, una mutación seleccionada del grupo que consiste en S267E, L328F, y una combinación de los mismos, numerados según el sistema de numeración de la UE, puede hacerse en la región constante de un anticuerpo descrito en el presente documento.

[00400] En una realización específica, un anticuerpo descrito en el presente documento comprende el dominio constante de una IgG₁ con una sustitución de aminoácidos N297Q o N297A, numerados según el sistema de numeración de la UE. En una realización, un anticuerpo descrito en el presente documento comprende el dominio constante de una IgG₁ con una mutación seleccionada del grupo que consiste en D265A, P329A, y una combinación de los mismos, numerados según el sistema de numeración de la UE. En otra realización, un anticuerpo descrito en el presente documento comprende el dominio constante de una IgG₁ con una mutación seleccionada del grupo que consiste en L234A, L235A, y una combinación de los mismos, numerados según el sistema de numeración de la UE. En otra realización, un

anticuerpo descrito en el presente documento comprende el dominio constante de una IgG₁ con una mutación seleccionada del grupo que consiste en L234F, L235F, N297A, y una combinación de los mismos, numerados según el sistema de numeración de la UE. En ciertas realizaciones, residuos de aminoácidos en la región constante de un anticuerpo descrito en el presente documento en las posiciones correspondientes a las posiciones L234, L235, y D265 en una cadena pesada de IgG1 humana, numerados según el sistema de numeración de la UE, no son L, L, y D, respectivamente. Este enfoque se describe en detalle en la Publicación Internacional No. WO 14/108483, el cual se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad. En una realización particular, los aminoácidos correspondientes a las posiciones L234, L235, y D265 en una cadena pesada de IgG1 humana son F, E, y A; o A, A, y A, respectivamente, numerados según el sistema de numeración de la UE.

[00401] En ciertas realizaciones, uno o más aminoácidos seleccionados de los residuos de aminoácidos 329, 331, y 322 en la región constante de un anticuerpo descrito en el presente documento, numerados según el sistema de numeración de la UE, se puede reemplazar con un residuo de aminoácido diferente de manera que el anticuerpo haya alterado la unión de C1q y/o reducido o abolido la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC). Este enfoque se describe con más detalle en Patente EE.UU. No. 6,194,551 (Idusogie *et al.*), la cual se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad. En ciertas realizaciones, uno o más residuos de aminoácidos dentro de las posiciones de aminoácidos 231 a 238 en la región N-terminal del dominio CH2 de un anticuerpo descrito en el presente documento se alteran para alterar así la capacidad del anticuerpo para fijar el complemento, numerados según el sistema de numeración de la UE. Este enfoque se describe con más detalle en la Publicación Internacional No. WO 94/29351, la cual se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad. En ciertas realizaciones, la región Fc de un anticuerpo descrito en el presente documento se modifica para aumentar la capacidad del anticuerpo para mediar en la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) y/o para aumentar la afinidad del anticuerpo por un receptor Fcγ mediante la mutación de uno o más aminoácidos (por ejemplo, introduciendo sustituciones de aminoácidos) en las siguientes posiciones: 238, 239, 248, 249, 252, 254, 255, 256, 258, 265, 267, 268, 269, 270, 272, 276, 278, 280, 283, 285, 286, 289, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 298, 301, 303, 305, 307, 309, 312, 315, 320, 322, 324, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 333, 334, 335, 337, 338, 340, 360, 373, 376, 378, 382, 388, 389, 398, 414, 416, 419, 430, 434, 435, 437, 438, o 439, numerados según el sistema de numeración de la UE. Este enfoque se describe con más detalle en la Publicación Internacional No. WO 00/42072, la cual se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad.

[00402] En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en el presente documento comprende un dominio constante modificado de una IgG₁, en el que la modificación aumenta la capacidad del anticuerpo para mediar en la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC). En ciertas realizaciones, 0,1, 1, o 10 µg/ml del anticuerpo es capaz de inducir la muerte celular de al menos 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, o 60% de células que expresan CD73 en 1, 2 o 3 horas, según lo evaluado por los métodos descritos en el presente documento y/o conocidos por un experto en la técnica. En ciertas realizaciones, el dominio constante modificado de una IgG₁ comprende sustituciones S239D e I332E, numerados según el sistema de numeración de la UE. En ciertas realizaciones, el dominio constante modificado de una IgG₁ comprende sustituciones S239D, A330L, y I332E, numerados según el sistema de numeración de la UE. En ciertas realizaciones, el dominio constante modificado de una IgG₁ comprende sustituciones L235V, F243L, R292P, Y300L, y P396L, numerados según el sistema de numeración de la UE. En ciertas realizaciones, el anticuerpo es capaz de inducir la muerte celular en células T efectoras y Treg, en donde el porcentaje de Treg que sufren muerte celular es más alto que el porcentaje de células T efectoras que experimentan muerte celular en al menos 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 1,6 veces, 1,7 veces, 1,8 veces, 1,9 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, o 5 veces.

[00403] En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en este documento comprende la región constante de un anticuerpo IgG4 y la serina en el residuo de aminoácido 228 de la cadena pesada, numerada según el sistema de numeración de la UE, se sustituye por prolina. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una región constante de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26.

[00404] En ciertas realizaciones, cualquiera de las mutaciones o modificaciones de la región constante descritas en el presente documento se puede introducir en una o ambas regiones constantes de la cadena pesada de un anticuerpo descrito en el presente documento que tiene dos regiones constantes de cadena pesada.

[00405] En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 63-88. En ciertas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 63. En ciertas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena

[illegible]

aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 85. En ciertas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 86. En ciertas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 87. En ciertas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 88.

[00406] En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 92-98. En ciertas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 92. En ciertas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 93. En ciertas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 94. En ciertas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 95. En ciertas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 96. En ciertas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 97. En ciertas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 98.

[00407] En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 63-88; y una cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 92-98. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 92. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 64; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID

NO: 92. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 65; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID

5 NO: 94. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 66; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID

10 NO: 94. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 67; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID

15 NO: 95. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID

20 NO: 95. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID

25 NO: 96. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID

30 NO: 96. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 71; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID

NO: 96. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 72; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID

NO: 96. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el

anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 96. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el

5 anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 96. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de

10 SEQ ID NO: 75; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 96. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de

15 SEQ ID NO: 76; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 96. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de

20 SEQ ID NO: 77; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 97. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de

25 SEQ ID NO: 79; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 97. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de

30 SEQ ID NO: 80; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 97. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de

SEQ ID NO: 77; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID

NO: 98. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 78; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID

5 NO: 98. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID

10 NO: 98. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID

15 NO: 98. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID

20 NO: 97. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 82; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID

25 NO: 97. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 84; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID

30 NO: 97. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID

NO: 97. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el

anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 97. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el

5 anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 87; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 97. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de

10 SEQ ID NO: 88; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 97. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID

15 NO: 98. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 82; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 98. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el

20 anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 83; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 98. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de

25 SEQ ID NO: 84; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 98. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de

30 SEQ ID NO: 85; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 98. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID

- NO: 98. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 87; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID
- 5 NO: 98. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), el anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 88; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 98.
- 10 **[00408]** Se puede utilizar cualquier formato de anticuerpo en los anticuerpos divulgados en el presente documento. En ciertas realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo monocatenario o Fv monocatenario (scFv). En ciertas realizaciones, el anticuerpo es un scFv fusionado con una región Fc (scFv-Fc). En ciertas realizaciones, el anticuerpo es un fragmento Fab. En ciertas realizaciones, el anticuerpo es un fragmento F(ab')₂.
- 15 **[00409]** En ciertas realizaciones, el anticuerpo divulgado en el presente documento es un anticuerpo multiespecífico (por ejemplo, un anticuerpo biespecífico) que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) y a second antigen.
- [00410]** En ciertas realizaciones, el anticuerpo divulgado en el presente documento está
- 20 conjugado con un segundo anticuerpo que se une específicamente a un segundo antígeno. En ciertas realizaciones, el anticuerpo divulgado en el presente documento está conjugado covalentemente con un segundo anticuerpo. En ciertas realizaciones, el anticuerpo divulgado en el presente documento está conjugado no covalentemente a un segundo anticuerpo. En ciertas realizaciones, el anticuerpo divulgado en el presente documento está entrecruzado con
- 25 un segundo anticuerpo. En ciertas realizaciones, está entrecruzado con un segundo anticuerpo el segundo antígeno es un antígeno asociado a un tumor (por ejemplo, un polipéptido sobreexpresado en un tumor, un polipéptido derivado de un oncovirus, un polipéptido que comprende una modificación postraduccional específica de un tumor, un polipéptido mutado específicamente en un tumor). En ciertas realizaciones, el antígeno asociado al tumor es EGFR
- 30 (por ejemplo, EGFR humano), en el que opcionalmente el segundo anticuerpo es cetuximab. En ciertas realizaciones, el antígeno asociado al tumor es Her2 (por ejemplo, Her2 humano), opcionalmente en el que el segundo anticuerpo es trastuzumab. En ciertas realizaciones, el antígeno asociado al tumor es CD20 (por ejemplo, CD20 humano).

[00411] En ciertas realizaciones, el anticuerpo divulgado en el presente documento se conjuga con un agente citotóxico, un agente citostático, una toxina, un radionúclido o un marcador detectable. En ciertas realizaciones, el agente citotóxico es capaz de inducir la muerte o destrucción de una célula en contacto con él. En ciertas realizaciones, el agente citostático es capaz de prevenir o reducir sustancialmente la proliferación y/o inhibir la actividad o función de una célula en contacto con el mismo. En ciertas realizaciones, el agente citotóxico o agente citostático es un agente quimioterápico. En ciertas realizaciones, el radionúclido se selecciona del grupo formado por los isótopos ^3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{51}Cr , ^{57}Co , ^{58}Co , ^{59}Fe , ^{67}Cu , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{117}Lu , ^{121}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I , ^{198}Au , ^{211}At , ^{213}Bi , ^{225}Ac y ^{186}Re . En ciertas realizaciones, la marca detectable comprende un resto fluorescente o un mango de química de clic.

[00412] En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) y funciona como antagonista (por ejemplo, disminuye o inhibe la actividad de CD73).

[00413] En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) y disminuye o inhibe la actividad de CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) por al menos 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, o 99%, según se evalúe mediante métodos descritos en el presente documento y/o conocidos por un experto en la técnica, respecto a la actividad de CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) sin ningún anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus)). En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) y disminuye o inhibe la actividad de CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) por al menos aproximadamente 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces, 100 veces, o más, según se evalúe mediante métodos descritos en el presente documento y/o conocidos por un experto en la técnica, respecto a la actividad de CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) sin ningún anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano)). Ejemplos no limitantes de la actividad de CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) pueden incluir señalización de CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus); unión de CD73 (por ejemplo, CD73 humano,

ratón, o cynomolgus) a sus socios de unión y/o sustratos (por ejemplo, AMP o un análogo o variante del mismo); CD73 cataliza la conversión de al menos una de sus sustratos (por ejemplo, AMP o un análogo o una variante del mismo), facilita el crecimiento tumoral y la metástasis y otras funciones conocidas (por ejemplo, ver Gao *et al.* (2014) *BioMed Res. Int.* Article ID 460654). En realizaciones específicas, la reducción en una actividad de CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) se evalúa como se describe en los Ejemplos, más adelante.

[00414] En realizaciones específicas, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) y disminuye o inhibe la actividad enzimática de CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) (por ejemplo, catalizando la conversión de AMP en adenosina) al menos aproximadamente 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, o 99%, según se evalúe mediante los métodos descritos en el presente documento (ver los Ejemplos, más adelante) o conocido por un experto en la técnica, respecto a la actividad enzimática de CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) sin ningún anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus)). En realizaciones específicas, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, cynomolgus) y disminuye o inhibe la actividad enzimática de CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, cynomolgus) (por ejemplo, catalizando la conversión de AMP en adenosina) al menos aproximadamente 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces, o 100 veces, según se evalúe mediante los métodos descritos en el presente documento (ver los Ejemplos, más adelante) o conocido por un experto en la técnica, respecto a la actividad enzimática de CD73 (por ejemplo, CD73 humano) sin ningún anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus)).

[00415] En realizaciones específicas, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) y reduce la progresión del cáncer (por ejemplo, proliferación y/o metástasis de células en el microambiente de un tipo de cáncer divulgado en el presente documento) por al menos aproximadamente 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%,

70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, o 99%, según se evalúe mediante los métodos descritos en el presente documento (ver los Ejemplos, más adelante) o conocido por un experto en la técnica, respecto de la progresión del cáncer sin ningún anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus)). En realizaciones específicas, la presente divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) y reduce la progresión del cáncer (por ejemplo, proliferación y/o metástasis de células en el microambiente de un tipo de cáncer divulgado en el presente documento) por al menos aproximadamente 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces, o 100 veces, o más, según se evalúe mediante los métodos descritos en el presente documento (ver los Ejemplos, más adelante) o conocido por un experto en la técnica, respecto de la progresión del cáncer sin ningún anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus)).

5.3 Anticuerpos anti-CD73 que comprenden restos de unión a ligando

[00416] En un aspecto, la presente divulgación proporciona anticuerpos que se unen específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, CD73 cynomolgus, o CD73 de ratón) y comprenden un resto de unión a ligando (por ejemplo, un resto de unión a TGF β o un resto de unión a VEGF).

[00417] Los anticuerpos anti-CD73 que comprenden un resto de unión a ligando pueden comprender una cadena de inmunoglobulina de cualquier anticuerpo anti-CD73. En la Sección 5.2 de la presente memoria se describen anticuerpos anti-CD73 ejemplares. Se describen anticuerpos anti-CD73 ejemplares adicionales en WO2016055609A1, WO2016075099A1, WO2016081748A2, WO2016131950A1, WO2017064043A1, WO2017100670A1, WO2017118613A1, WO2017152085A1, y US9388249B2, cada uno de los cuales se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD73 comprende un VH y un VL de un anticuerpo anti-CD73 como se describe en la Sección 5.2. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD73 comprende una cadena pesada y una cadena ligera de un anticuerpo anti-CD73 como se describe en la Sección 5.2.

[00418] Un resto de unión a ligando se puede unir a cualquier porción de una cadena de inmunoglobulina de un anticuerpo anti-CD73, incluido el residuo de aminoácido N- o C-terminal. El resto de unión del ligando se puede unir (covalentemente o no covalentemente) a

la cadena de inmunoglobulina directamente o mediante un enlazador (por ejemplo, un enlazador peptídico). El enlace covalente puede ser un enlace químico o genético (es decir, para formar una proteína de fusión). En ciertas realizaciones, el resto de unión del ligando está unido (por ejemplo, covalentemente) al residuo de aminoácido C-terminal de la cadena de inmunoglobulina. En ciertas realizaciones, el resto de unión del ligando está unido al residuo de aminoácido C-terminal de una cadena de inmunoglobulina sin un enlazador (por ejemplo, a través de un enlace peptídico). En ciertas realizaciones, el resto de unión del ligando está unido (por ejemplo, covalentemente) al residuo de aminoácido C-terminal de la cadena de inmunoglobulina por medio de un enlazador. En ciertas realizaciones, el enlazador es un enlazador peptídico. En ciertas realizaciones, el péptido enlazador tiene la fórmula general $(G_4S)_n$, en donde n es un número entero. En ciertas realizaciones, el péptido enlazador comprende una secuencia de aminoácidos con al menos 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad con SEQ ID NO: 103, 104, 105, 106, 107, o 108. En ciertas realizaciones, el péptido enlazador consta de una secuencia de aminoácidos con al menos 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad con SEQ ID NO: 103, 104, 105, 106, 107, o 108. En ciertas realizaciones, el péptido enlazador está unido a la cadena de inmunoglobulina a través de un enlace peptídico.

[00419] En ciertas realizaciones, el resto de unión del ligando está unido (por ejemplo, covalentemente) a una VH del anticuerpo anti-CD73. El resto de unión del ligando se puede unir (por ejemplo, covalentemente) a cualquier parte de la VH, incluido el residuo de aminoácido N- o C-terminal. En ciertas realizaciones, el resto de unión del ligando está unido (por ejemplo, covalentemente) al residuo de aminoácido C-terminal de la VH. En ciertas realizaciones, el resto de unión del ligando está unido al residuo de aminoácido C-terminal de la VH sin un enlazador (por ejemplo, a través de un enlace peptídico). En ciertas realizaciones, el resto de unión del ligando está unido (por ejemplo, covalentemente) al residuo de aminoácido C-terminal de la VH por medio de un enlazador. En ciertas realizaciones, el enlazador es un enlazador peptídico. En ciertas realizaciones, el péptido enlazador comprende una secuencia de aminoácidos con al menos 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad con SEQ ID NO: 103, 104, 105, 106, 107, o 108. En ciertas realizaciones, el péptido enlazador consta de una secuencia de aminoácidos con al menos 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad con SEQ ID NO: 103, 104, 105, 106, 107, o 108. En ciertas realizaciones, el péptido enlazador está ligado a la VH a través de un enlace peptídico.

[00420] En ciertas realizaciones, el resto de unión del ligando está unido (por ejemplo, covalentemente) a una VL del anticuerpo anti-CD73. El resto de unión del ligando se puede unir (por ejemplo, covalentemente) a cualquier parte de la VL, incluido el residuo de aminoácido N- o C-terminal. En ciertas realizaciones, el resto de unión del ligando está unido (por ejemplo, covalentemente) al residuo de aminoácido C-terminal de la VL. En ciertas realizaciones, el resto de unión del ligando está unido al residuo de aminoácido C-terminal de la VL sin un enlazador (por ejemplo, a través de un enlace peptídico). En ciertas realizaciones, el resto de unión del ligando está unido (por ejemplo, covalentemente) al residuo de aminoácido C-terminal de la VL por medio de un enlazador. En ciertas realizaciones, el enlazador es un enlazador peptídico. En ciertas realizaciones, el péptido enlazador comprende una secuencia de aminoácidos con al menos 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad con SEQ ID NO: 103, 104, 105, 106, 107, o 108. En ciertas realizaciones, el péptido enlazador consta de una secuencia de aminoácidos con al menos 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad con SEQ ID NO: 103, 104, 105, 106, 107, o 108. En ciertas realizaciones, el péptido enlazador está ligado a la VL a través de un enlace peptídico.

[00421] En ciertas realizaciones, el resto de unión del ligando está unido (por ejemplo, covalentemente) a una región constante de cadena pesada del anticuerpo anti-CD73. El resto de unión del ligando se puede unir (por ejemplo, covalentemente) a cualquier parte de la región constante de cadena pesada. En ciertas realizaciones, el resto de unión del ligando está unido (por ejemplo, covalentemente) al residuo de aminoácido C-terminal de la región constante de cadena pesada. En ciertas realizaciones, el resto de unión del ligando está unido al residuo de aminoácido C-terminal de la región constante de cadena pesada sin un enlazador (por ejemplo, a través de un enlace peptídico). En ciertas realizaciones, el resto de unión del ligando está unido (por ejemplo, covalentemente) al residuo de aminoácido C-terminal de la región constante de cadena pesada por medio de un enlazador. En ciertas realizaciones, el enlazador es un enlazador peptídico. En ciertas realizaciones, el péptido enlazador comprende una secuencia de aminoácidos con al menos 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad con SEQ ID NO: 103, 104, 105, 106, 107, o 108. En ciertas realizaciones, el péptido enlazador consta de una secuencia de aminoácidos con al menos 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad con SEQ ID NO: 103, 104, 105, 106, 107, o 108. En ciertas realizaciones, el enlazador peptídico está unido a la región constante de cadena pesada a través de un enlace peptídico.

[00422] En ciertas realizaciones, el resto de unión del ligando está unido (por ejemplo, covalentemente) a una región constante de cadena ligera del anticuerpo anti-CD73. El resto de unión del ligando se puede unir (por ejemplo, covalentemente) a cualquier parte de la región constante de cadena ligera. En ciertas realizaciones, el resto de unión del ligando está unido (por ejemplo, covalentemente) al residuo de aminoácido C-terminal de la región constante de cadena ligera. En ciertas realizaciones, el resto de unión del ligando está unido al residuo de aminoácido C-terminal de la región constante de cadena ligera sin un enlazador (por ejemplo, a través de un enlace peptídico). En ciertas realizaciones, el resto de unión del ligando está unido (por ejemplo, covalentemente) al residuo de aminoácido C-terminal de la región constante de cadena ligera por medio de un enlazador. En ciertas realizaciones, el enlazador es un enlazador peptídico. En ciertas realizaciones, el péptido enlazador comprende una secuencia de aminoácidos con al menos 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad con SEQ ID NO: 103, 104, 105, 106, 107, o 108. En ciertas realizaciones, el péptido enlazador consta de una secuencia de aminoácidos con al menos 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad con SEQ ID NO: 103, 104, 105, 106, 107, o 108. En ciertas realizaciones, el enlazador peptídico está unido a la región constante de cadena ligera a través de un enlace peptídico.

[00423] El resto de unión al ligando puede ser cualquier resto que tenga la capacidad de unirse específicamente a una molécula o complejo diana. En ciertas realizaciones, el resto de unión al ligando comprende un péptido o polipéptido. En ciertas realizaciones, el péptido o polipéptido está unido a la cadena de inmunoglobulina del anticuerpo anti-CD73 a través de un enlace peptídico. En ciertas realizaciones, el péptido o polipéptido está unido a la cadena de inmunoglobulina del anticuerpo anti-CD73 mediante un enlazador peptídico, en el que el péptido o polipéptido está unido al enlazador peptídico a través de un enlace peptídico. En ciertas realizaciones, el residuo de aminoácido N-terminal del péptido o polipéptido está unido al residuo de aminoácido C-terminal de la cadena de inmunoglobulina o el péptido enlazador a través de un enlace peptídico.

[00424] En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD-73 comprende un polipéptido que comprende (a) una cadena de inmunoglobulina, (b) un resto de unión al ligando, y opcionalmente (c) un enlazador peptídico como se divulga en el presente documento. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD-73 comprende un polipéptido que comprende del N-terminal al C-terminal la cadena de inmunoglobulina y el resto de unión. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD-73 comprende un polipéptido que comprende del N-

terminal al C-terminal: la cadena de inmunoglobulina, el enlazador peptídico, y el resto de unión. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD73 consiste en un polipéptido que comprende (a) una cadena de inmunoglobulina, (b) el reto de unión al ligando, y opcionalmente (c) un enlazador peptídico como se divulga en el presente documento. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD73 consiste en un polipéptido que comprende del N-terminal al C-terminal la cadena de inmunoglobulina y el resto de unión. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD73 consiste en un polipéptido que comprende del N-terminal al C-terminal: la cadena de inmunoglobulina, el enlazador peptídico, y el resto de unión. En ciertas realizaciones, la cadena de inmunoglobulina es una cadena pesada de longitud completa. En ciertas realizaciones, la cadena de inmunoglobulina que comprende es una cadena ligera de longitud completa.

[00425] En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD73 comprende un resto de unión capaz de antagonizar y/o inhibir la vía de señalización de TGF β . En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD73 comprende un resto de unión capaz de antagonizar y/o inhibir el TGF β . En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD73 comprende un resto de unión a TGF β . El resto de unión a TGF β puede ser cualquier resto que se una específicamente a uno o más miembros de la familia o isoformas de TGF β . En ciertas realizaciones, el resto de unión a TGF β se une específicamente a TGF β 1 (por ejemplo, TGF β 1 humano). En ciertas realizaciones, el resto de unión a TGF β se une específicamente a TGF β 2 (por ejemplo, TGF β 2 humano). En ciertas realizaciones, el resto de unión a TGF β se une específicamente a TGF β 3 (por ejemplo, TGF β 3 humano). En ciertas realizaciones, el resto de unión a TGF β se une específicamente a al menos dos de TGF β 1 (por ejemplo, TGF β 1 humano), TGF β 2 (por ejemplo, TGF β 2 humano), y TGF β 3 (por ejemplo, TGF β 3 humano). En ciertas realizaciones, el resto de unión a TGF β se une específicamente a TGF β 1 (por ejemplo, TGF β 1 humano) y TGF β 3 (por ejemplo, TGF β 3 humano). En ciertas realizaciones, el resto de unión a TGF β se une específicamente a TGF β 1 (por ejemplo, TGF β 1 humano), TGF β 2 (por ejemplo, TGF β 2 humano), y TGF β 3 (por ejemplo, TGF β 3 humano). El experto en la materia apreciará que un resto de unión a TGF β que se une específicamente a un miembro de la familia o isoforma de TGF β puede unirse a uno o más miembros de la familia o isoformas de TGF β con afinidad similar o superior. Ejemplos de restos de unión a TGF β se describen en De Crescenzo *et al.* (2008) Transforming Growth Factor- β in Cancer Therapy, Volume II, Cancer Drug Discovery y Development, Humana Press; Zwaagstra *et al.* (2012) Mol Cancer Ther. 11(7):1477-87; Ravi *et al.* (2018) Nat. Commun. 9:741; EP0975771B1, US7786261B2, US8993524B2, y US20150225483A1, cada uno de los cuales se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad.

[00426] En ciertas realizaciones, el resto de unión a TGF β comprende un dominio de una proteína que se une a TGF β 1 (por ejemplo, TGF β 1 humano), TGF β 2 (por ejemplo, TGF β 2 humano), y/o TGF β 3 (por ejemplo, TGF β 3 humano), o una variante del mismo que tiene una afinidad de unión de TGF β similar o mejorada. En ciertas realizaciones, el dominio es un dominio extracelular de un receptor de TGF β (por ejemplo, un receptor de TGF β humano). En ciertas realizaciones, el dominio es un dominio de unión a TGF β de un receptor de TGF β (por ejemplo, un receptor de TGF β humano). En ciertas realizaciones, el receptor de TGF β se selecciona del grupo que consiste en TGF β R1 (por ejemplo, TGF β R1 humano), TGF β R2 (por ejemplo, TGF β R2 humano), y TGF β R3 (por ejemplo, TGF β R3 humano). En ciertas realizaciones, el resto de unión a TGF β comprende una secuencia de aminoácidos al menos 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% idéntica a la secuencia establecida en SEQ ID NO: 109, 110, 111, o 112. En ciertas realizaciones, el resto de unión a TGF β comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 109, 110, 111, o 112. En ciertas realizaciones, el resto de unión a TGF β consiste en una secuencia de aminoácidos al menos 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% idéntica a la secuencia establecida en SEQ ID NO: 109, 110, 111, o 112. En ciertas realizaciones, el resto de unión a TGF β consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 109, 110, 111, o 112.

[00427] En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD-73 comprende un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% idéntica a la secuencia establecida en SEQ ID NO: 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, o 121. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD73 comprende un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, o 121. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD73 comprende un polipéptido que consiste en una secuencia de aminoácidos al menos 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% idéntica a la secuencia establecida en SEQ ID NO: 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, o 121. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD73 comprende un polipéptido que consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, o 121.

[00428] En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD73 que comprende un resto de unión a TGF β comprende además un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% idéntica a la secuencia establecida en SEQ ID NO: 97, 92, o 128. En ciertas

realizaciones, el anticuerpo anti-CD73 que comprende un resto de unión a TGF β comprende además un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% idéntica a la secuencia establecida en SEQ ID NO: 97. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD73

5 que comprende un resto de unión a TGF β comprende además un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 97. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD73 que comprende un resto de unión a TGF β comprende además un polipéptido que consiste en una secuencia de aminoácidos al menos 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% idéntica a la secuencia

10 establecida en SEQ ID NO: 97. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD73 que comprende un resto de unión a TGF β comprende además un polipéptido que consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 97.

[00429] En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD73 comprende un primer polipéptido y un segundo polipéptido, donde el primer y segundo polipéptido comprenden las secuencias

15 de aminoácidos establecidas en SEQ ID NOs: 113 y 92, 114 y 97, 115 y 97, 116 y 97, 117 y 97, 118 y 97, 119 y 97, 120 y 97, o 121 y 97, respectivamente. En ciertas realizaciones, el primer y segundo polipéptidos consisten en las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID NOs: 113 y 92, 114 y 97, 115 y 97, 116 y 97, 117 y 97, 118 y 97, 119 y 97, 120 y 97, o 121 y 97, respectivamente. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD73 comprende dos

20 polipéptidos cada uno comprendiendo la secuencia de aminoácidos del primer polipéptido, y dos polipéptidos cada uno comprendiendo la secuencia de aminoácidos del segundo polipéptido. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD-73 comprende dos copias del primer polipéptido y dos copias del segundo polipéptido. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD-73 consiste en dos copias del primer polipéptido y dos copias del segundo polipéptido.

25 **[00430]** En ciertas realizaciones, el resto de unión a TGF β comprende un anticuerpo que se une específicamente a TGF β 1 (por ejemplo, TGF β 1 humano), TGF β 2 (por ejemplo, TGF β 2 humano) y/o TGF β 3 (por ejemplo, TGF β 3 humano), o un fragmento de unión a antígeno del mismo. Ejemplos de anticuerpos anti-TGF β incluyen fresolumimab y metelimumab, y se describen en los documentos US6492497B1, US7151169B2, US7723486B2, que se

30 incorporan en el presente documento como referencia en su totalidad.

[00431] En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD-73 comprende un resto de unión capaz de antagonizar y/o inhibir una vía de señalización de VEGF. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD-73 comprende un resto de unión capaz de antagonizar y/o inhibir VEGF. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD-73 comprende un resto de unión a VEGF. El

resto de unión a VEGF puede ser cualquier resto que se une específicamente a uno o más miembros de la familia o isoformas de VEGF. En ciertas realizaciones, el resto de unión a VEGF se une específicamente a VEGF-A (por ejemplo, VEGF-A humano). En ciertas realizaciones, el resto de unión a VEGF se une específicamente a VEGF-B (por ejemplo, VEGF-B humano). En ciertas realizaciones, el resto de unión a VEGF se une específicamente a VEGF-C (por ejemplo, VEGF-C humano). En ciertas realizaciones, el resto de unión a VEGF se une específicamente a VEGF-D (por ejemplo, VEGF-D humano). En ciertas realizaciones, el resto de unión a VEGF se une específicamente a al menos dos de VEGF-A (por ejemplo, VEGF-A humano), VEGF-B (por ejemplo, VEGF-B humano), VEGF-C (por ejemplo, VEGF-C humano), y VEGF-D (por ejemplo, VEGF-D humano). En ciertas realizaciones, el resto de unión a VEGF se une específicamente a VEGF-A (por ejemplo, VEGF-A humano) y VEGF-B (por ejemplo, VEGF-B humano). En ciertas realizaciones, el resto de unión a VEGF se une específicamente a VEGF-C (por ejemplo, VEGF-C humano) y VEGF-D (por ejemplo, VEGF-D humano). En ciertas realizaciones, el resto de unión a VEGF se une específicamente a al menos tres de VEGF-A (por ejemplo, VEGF-A humano), VEGF-B (por ejemplo, VEGF-B humano), VEGF-C (por ejemplo, VEGF-C humano), y VEGF-D (por ejemplo, VEGF-D humano). En ciertas realizaciones, el resto de unión a VEGF se une específicamente a VEGF-A (por ejemplo, VEGF-A humano), VEGF-B (por ejemplo, VEGF-B humano), VEGF-C (por ejemplo, VEGF-C humano), y VEGF-D (por ejemplo, VEGF-D humano). El trabajador calificado apreciará que un resto de unión a VEGF que se une específicamente a un miembro de la familia o isoforma de VEGF puede unirse a uno o más miembros de la familia o isoformas de VEGF con afinidad similar o superior. Ejemplos de restos de unión a VEGF incluyen aflibercept y se describen en Holash *et al.* (2002) PNAS 99 (17): 11393-98; US7306799B2, US7608261B2; y US7531173B2, cada uno de los cuales se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad.

[00432] En ciertas realizaciones, el resto de unión a VEGF comprende un dominio de una proteína que se une a VEGF-A (por ejemplo, VEGF-A humano), VEGF-B (por ejemplo, VEGF-B humano), VEGF-C (por ejemplo, VEGF-C humano), y/o VEGF-D (por ejemplo, VEGF-D humano), o una variante del mismo que tiene una afinidad de unión a VEGF similar o mejorada. En ciertas realizaciones, el dominio es un dominio extracelular de un receptor de VEGF (por ejemplo, un receptor de VEGF humano). En ciertas realizaciones, el dominio es un dominio de unión a VEGF de un receptor de VEGF (por ejemplo, un receptor de VEGF humano). En ciertas realizaciones, el dominio de unión a VEGF comprende uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis o siete de los dominios de tipo inmunoglobulina de un receptor de VEGF

(por ejemplo, un receptor de VEGF humano). En ciertas realizaciones, el dominio de unión a VEGF comprende uno o más, dos o más, tres o más, cuatro o más, cinco o más, o seis o más de los dominios tipo inmunoglobulina de un receptor de VEGF (por ejemplo, un receptor de VEGF humano). En ciertas realizaciones, el dominio de unión a VEGF comprende como

5 máximo dos, tres, cuatro, cinco o seis de los dominios tipo inmunoglobulina de un receptor de VEGF (por ejemplo, un receptor de VEGF humano). En ciertas realizaciones, el receptor de VEGF se selecciona del grupo que consiste en VEGFR1 (por ejemplo, VEGFR1 humano), VEGFR2 (por ejemplo, VEGFR2 humano), y VEGFR3 (por ejemplo, VEGFR3 humano). En ciertas realizaciones, el resto de unión a VEGF comprende un dominio extracelular de

10 VEGFR1 (por ejemplo, VEGFR1 humano). En ciertas realizaciones, el resto de unión a VEGF comprende una secuencia de aminoácidos al menos 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% idéntica a la secuencia establecida en SEQ ID NO: 122. En ciertas realizaciones, el resto de unión a VEGF comprende una secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 122. En ciertas realizaciones, el resto de unión a

15 VEGF consiste en una secuencia de aminoácidos al menos 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% idéntica a la secuencia establecida en SEQ ID NO: 122. En ciertas realizaciones, el resto de unión a VEGF consiste en una secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 122. En ciertas realizaciones, el resto de unión a VEGF comprende un dominio extracelular de VEGFR2 (por ejemplo, VEGFR2

20 humano). En ciertas realizaciones, el resto de unión a VEGF comprende un dominio extracelular de VEGFR3 (por ejemplo, VEGFR3 humano).

[00433] En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD-73 comprende un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% idéntica a la secuencia establecida en

25 SEQ ID NO: 123, 124, 125, 126, o 127. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD73 comprende un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 123, 124, 125, 126, o 127. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD73 comprende un polipéptido que consiste en una secuencia de aminoácidos al menos 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% idéntica a la secuencia

30 establecida en SEQ ID NO: 123, 124, 125, 126, o 127. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD73 comprende un polipéptido que consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 123, 124, 125, 126, o 127.

[00434] En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD73 que comprende un resto de unión a VEGF comprende además un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos al

menos 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% idéntica a la secuencia establecida en SEQ ID NO: 97, 92, o 128. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD73 que comprende un resto de unión a VEGF comprende además un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% idéntica a la secuencia establecida en SEQ ID NO: 97. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD73 que comprende un resto de unión a VEGF comprende además un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 97. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD73 que comprende un resto de unión a VEGF comprende además un polipéptido que consiste en una secuencia de aminoácidos al menos 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% idéntica a la secuencia establecida en SEQ ID NO: 97. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD73 que comprende un resto de unión a VEGF comprende además un polipéptido que consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 97.

15 **[00435]** En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD-73 comprende un primer polipéptido y un segundo polipéptido, en donde el primer y segundo polipéptidos comprende las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID NOs: 123 y 92, 124 y 128, 125 y 128, 126 y 97, o 127 y 97, respectivamente. En ciertas realizaciones, el primer y segundo polipéptidos consisten en las secuencias de aminoácidos establecido en SEQ ID NOs: 123 y 92, 124 y 128, 125 y 128, 126 y 97, o 127 y 97, respectivamente. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD73 comprende dos polipéptidos cada uno comprendiendo la secuencia de aminoácidos del primer polipéptido, y dos polipéptidos que comprende la secuencia de aminoácidos del segundo polipéptido. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD-73 comprende dos copias del primer polipéptido y dos copias del segundo polipéptido. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD-73 consiste en dos copias del primer polipéptido y dos copias del segundo polipéptido. En ciertas realizaciones, el resto de unión a VEGF comprende un anticuerpo que se une específicamente a VEGF-A (por ejemplo, VEGF-A humano), VEGF-B (por ejemplo, VEGF-B humano), VEGF-C (por ejemplo, VEGF-C humano), y/o VEGF-D (por ejemplo, VEGF-D humano), o un fragmento de unión a antígeno del mismo. Los ejemplos de anticuerpos anti-VEGF incluyen bevacizumab y ranibizumab, y se describen en WO1998045331A2 y WO1998045332A2, que se incorporan en el presente documento como referencia en su totalidad.

5.4 Composiciones farmacéuticas

- [00436] Se proporcionan en el presente documento composiciones que comprenden un anticuerpo anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) divulgado en el presente documento que tienen el grado de pureza deseado en un vehículo, excipiente o estabilizador fisiológicamente aceptable (ver, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA). Los vehículos, excipientes o estabilizadores aceptables no son tóxicos para los receptores en las dosis y concentraciones empleadas, e incluyen amortiguadores tales como fosfato, citrato y otros ácidos orgánicos; antioxidantes que incluyen ácido ascórbico y metionina; conservantes (como cloruro de octadecildimetilbencil amonio; cloruro de hexametonio; cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio; fenol, alcohol butílico o bencílico; alquil parabenos como metil o propil parabeno; catecol; resorcinol; ciclohexanol; 3-pentanol; y m-cresol); polipéptidos de bajo peso molecular (menos de aproximadamente 10 residuos); proteínas, como seroalbúmina, gelatina o inmunoglobulinas; polímeros hidrófilos como polivinilpirrolidona; aminoácidos tales como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina o lisina; monosacáridos, disacáridos y otros carbohidratos que incluyen glucosa, manosa o dextrinas; agentes quelantes como EDTA; azúcares como sacarosa, manitol, trehalosa o sorbitol; contraiones formadores de sal tales como sodio; complejos metálicos (por ejemplo, complejos Zn-proteína); y/o tensioactivos no iónicos como TWEEN™, PLURONICS™ o polietilenglicol (PEG).
- [00437] En una realización específica, las composiciones farmacéuticas comprenden un anticuerpo anti-CD73 (por ejemplo, humano. Ratón, o CD73 cynomolgus) divulgado en el presente documento, y opcionalmente, uno o más agentes profilácticos o terapéuticos adicionales, en un vehículo farmacéuticamente aceptable. En una realización específica, las composiciones farmacéuticas comprenden una cantidad eficaz de un anticuerpo descrito en el presente documento, y opcionalmente, uno o más agentes profilácticos o terapéuticos adicionales, en un vehículo farmacéuticamente aceptable. En ciertas realizaciones, el anticuerpo es el único ingrediente activo incluido en la composición farmacéutica. Las composiciones farmacéuticas descritas en este documento pueden ser útiles para disminuir o inhibir la actividad de CD73. (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) y tratar una afección, como el cáncer o una enfermedad infecciosa. En una realización, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica de la presente invención que comprende un anticuerpo anti-CD73 de la presente invención para su uso como medicamento. En otra realización, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica de la presente invención para su uso en un método para el tratamiento del cáncer o una enfermedad infecciosa.

[00438] Los vehículos farmacéuticamente aceptables usados en preparaciones parenterales incluyen vehículos acuosos, vehículos no acuosos, agentes antimicrobianos, agentes isotónicos, amortiguadores, antioxidantes, anestésicos locales, agentes de suspensión y dispersión, agentes emulsionantes, agentes secuestrantes o quelantes y otras sustancias farmacéuticamente aceptables. Ejemplos de vehículos acuosos incluyen inyección de cloruro de sodio, inyección de Ringer, inyección de dextrosa isotónica, inyección de agua estéril, inyección de Ringer dextrosa y lactato. Los vehículos parenterales no acuosos incluyen aceites fijos de origen vegetal, aceite de semilla de algodón, aceite de maíz, aceite de sésamo y aceite de cacahuete. Se pueden añadir agentes antimicrobianos en concentraciones bacteriostáticas o fungistáticas a preparaciones parenterales envasadas en envases de dosis múltiples que incluyen fenoles o cresoles, mercuriales, alcohol bencílico, clorobutanol, ésteres de ácido metil y propil p-hidroxibenzoico, timerosal, cloruro de benzalconio y cloruro de bencetonio. Los agentes isotónicos incluyen cloruro de sodio y dextrosa. Los tampones incluyen fosfato y citrato. Los antioxidantes incluyen bisulfato de sodio. Los anestésicos locales incluyen clorhidrato de procaina. Los agentes de suspensión y dispersión incluyen carboximetilcelulosa de sodio, hidroxipropilmetilcelulosa y polivinilpirrolidona. Los agentes emulsionantes incluyen Polysorbate 80 (TWEEN® 80). Un agente secuestrante o quelante de iones metálicos incluye EDTA. Los vehículos farmacéuticos también incluyen alcohol etílico, polietilenglicol y propilenglicol para vehículos miscibles en agua; e hidróxido de sodio, ácido clorhídrico, ácido cítrico o ácido láctico para ajustar el pH.

[00439] Se puede formular una composición farmacéutica para cualquier vía de administración a un sujeto. Los ejemplos específicos de vías de administración incluyen intranasal, oral, pulmonar, transdérmica, intradérmica y parenteral. La administración parenteral, caracterizada por inyección subcutánea, intramuscular o intravenosa, también se contempla en este documento. Los inyectables se pueden preparar en formas convencionales, ya sea como soluciones o suspensiones líquidas, formas sólidas adecuadas para solución o suspensión en líquido antes de la inyección, o como emulsiones. Los inyectables, soluciones y emulsiones también contienen uno o más excipientes. Los excipientes adecuados son, por ejemplo, agua, solución salina, dextrosa, glicerol o etanol. Además, si se desea, las composiciones farmacéuticas a administrar también pueden contener cantidades menores de sustancias auxiliares no tóxicas tales como agentes humectantes o emulsionantes, agentes tamponantes del pH, estabilizadores, potenciadores de la solubilidad y otros agentes similares, como por ejemplo, sodio. acetato, monolaurato de sorbitán, oleato de trietanolamina y ciclodextrinas.

[00440] Las preparaciones para administración parenteral de un anticuerpo incluyen soluciones estériles listas para inyección, productos solubles secos estériles, como polvos liofilizados, listos para ser combinados con un solvente justo antes de su uso, incluyendo tabletas hipodérmicas, suspensiones estériles listas para inyección, estériles productos secos insolubles listos para ser combinados con un vehículo justo antes de su uso y emulsiones estériles. Las soluciones pueden ser acuosas o no acuosas.

[00441] Si se administra por vía intravenosa, los vehículos adecuados incluyen solución salina fisiológica o solución salina amortiguada con fosfato (PBS) y soluciones que contienen agentes espesantes y solubilizantes, tales como glucosa, polietilenglicol y polipropilenglicol y mezclas de los mismos.

[00442] Las mezclas tópicas que comprenden proteínas de anticuerpos se preparan como se describe para la administración local y sistémica. La mezcla resultante puede ser una solución, suspensión, emulsiones o similares y puede formularse como cremas, geles, ungüentos, emulsiones, soluciones, elixires, lociones, suspensiones, tinturas, pastas, espumas, aerosoles, irrigaciones, aerosoles, supositorios, vendajes, parches dérmicos o cualquier otra formulación adecuada para administración tópica.

[00443] Un anticuerpo anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) divulgado en el presente documento se puede formular como un aerosol para aplicación tópica, como por inhalación (ver, por ejemplo, Patente EE.UU. Nos. 4,044,126, 4,414,209 y 4,364,923, que describen aerosoles para la administración de un esteroide útil para el tratamiento de enfermedades inflamatorias, particularmente asma y se incorporan en el presente documento como referencia en su totalidad). Estas formulaciones para administración en el tracto respiratorio pueden estar en forma de aerosol o solución para nebulizador, o como polvo microfino para insuflaciones, solo o en combinación con un vehículo inerte como lactosa. En tal caso, las partículas de la formulación tendrán, en una realización, diámetros de menos de 50 micrones, en una realización menos de 10 micrones.

[00444] Un anticuerpo anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) divulgado en el presente documento se puede formular para aplicación local o tópica, como para aplicación tópica en la piel y membranas mucosas, como en el ojo, en forma de geles, cremas y lociones y para aplicación en el ojo o para aplicación intracisternal o intraespinal. Se contempla la administración tópica para la administración transdérmica y también para la administración a los ojos o mucosas, o para terapias de inhalación. También pueden administrarse soluciones nasales de anticuerpo solas o en combinación con otros excipientes farmacéuticamente aceptables.

[00445] Los parches transdérmicos, incluidos los dispositivos iontoforéticos y electroforéticos, son bien conocidos por los expertos en la técnica y se pueden usar para administrar un anticuerpo. Por ejemplo, tales parches se describen en la Patente EE.UU. Nos. 6,267,983, 6,261,595, 6,256,533, 6,167,301, 6,024,975, 6,010,715, 5,985,317, 5,983,134, 5,948,433, y 5,860,957, todos los cuales se incorporan en el presente documento como referencia en su totalidad.

[00446] En ciertas realizaciones, una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo descrito en este documento es un polvo liofilizado, que puede reconstituirse para su administración como soluciones, emulsiones y otras mezclas. También se puede reconstituir y formular como sólidos o geles. El polvo liofilizado se prepara disolviendo un anticuerpo descrito en este documento, o un derivado farmacéuticamente aceptable del mismo, en un disolvente adecuado. En ciertas realizaciones, el polvo liofilizado es estéril. El disolvente puede contener un excipiente que mejore la estabilidad u otro componente farmacológico del polvo o solución reconstituida, preparado a partir del polvo. Los excipientes que pueden usarse incluyen, pero no se limitan a, dextrosa, sorbitol, fructosa, jarabe de maíz, xilitol, glicerina, glucosa, sacarosa u otro agente adecuado. El disolvente también puede contener un tampón, tal como citrato, fosfato de sodio o potasio u otro tampón conocido por los expertos en la técnica a, en una realización, aproximadamente pH neutro. La subsiguiente filtración estéril de la solución seguida de liofilización en condiciones estándar conocidas por los expertos en la técnica proporciona la formulación deseada. En una realización, la solución resultante se distribuirá en viales para liofilización. Cada vial contendrá una dosis única o múltiples dosis del compuesto. El polvo liofilizado se puede almacenar en condiciones apropiadas, como entre 4°C y temperatura ambiente. La reconstitución de este polvo liofilizado con agua para inyección proporciona una formulación para uso en administración parenteral. Para la reconstitución, el polvo liofilizado se agrega a agua estéril u otro vehículo adecuado. La cantidad precisa depende del compuesto seleccionado. Esta cantidad se puede determinar empíricamente.

[00447] Los anticuerpos anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) divulgados en el presente documento y otras composiciones proporcionadas en el presente documento también pueden formularse para dirigirse a un tejido, receptor u otra área particular del cuerpo del sujeto a tratar. Muchos de estos métodos de direccionamiento son bien conocidos por los expertos en la técnica. Todos estos métodos de direccionamiento se contemplan en este documento para su uso en las presentes composiciones. Para ejemplos no limitativos de métodos de focalización, ver, por ejemplo, Patente EE.UU. Nos. 6,316,652, 6,274,552,

6,271,359, 6,253,872, 6,139,865, 6,131,570, 6,120,751, 6,071,495, 6,060,082, 6,048,736, 6,039,975, 6,004,534, 5,985,307, 5,972,366, 5,900,252, 5,840,674, 5,759,542 y 5,709,874, todos los cuales se incorporan en el presente documento como referencia en su totalidad. En una realización específica, un anticuerpo descrito en este documento está dirigido a un tumor.

- 5 **[00448]** Las composiciones que se van a utilizar para la administración *in vivo* pueden ser estériles. Esto se logra fácilmente mediante filtración a través, por ejemplo, de membranas de filtración estériles.

5.5 Métodos de uso y usos

- [00449]** En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un método para tratar a un
 10 sujeto usando los anticuerpos anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) divulgados en el presente documento. Cualquier enfermedad o trastorno en un sujeto que se beneficiaría de la disminución de la función de CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) y/o la señalización relacionada con TGF β , VEGF y/o adenosina se puede tratar usando los anticuerpos anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón o cynomolgus)
 15 divulgados en el presente documento. En ciertas realizaciones, la enfermedad o trastorno es resistente a una inmunoterapia, como un agente de dirección de puntos de control (por ejemplo, un anticuerpo antagonista anti-CTLA-4, un anticuerpo antagonista anti-PD-L1, un anticuerpo antagonista anti-PD-L2, un anticuerpo antagonista anti-PD-1, un anticuerpo antagonista anti-TIM-3, un anticuerpo antagonista anti-LAG-3, un anticuerpo antagonista anti-CEACAM1, un
 20 anticuerpo agonista anti-GITR, un anticuerpo antagonista anti-TIGIT, un anticuerpo antagonista anti-VISTA, un anticuerpo agonista anti-C137, o un anticuerpo agonista anti-OX40), una terapia de células T TCR, o una terapia de células T de receptor de antígeno quimérico (CAR) (por ejemplo, una terapia de células T CAR CD19). En ciertas realizaciones, la enfermedad o trastorno es recurrente después del tratamiento con una inmunoterapia, como
 25 un agente de control de puntos de control (por ejemplo, un anticuerpo antagonista anti-CTLA-4, un anticuerpo antagonista anti-PD-L1, un anticuerpo antagonista anti-PD-L2, un anticuerpo antagonista anti-PD-1, un anticuerpo antagonista anti-TIM-3, un anticuerpo antagonista anti-LAG-3, un anticuerpo antagonista anti-CEACAM1, un anticuerpo agonista anti-GITR, un anticuerpo antagonista anti-TIGIT, un anticuerpo antagonista anti-VISTA, un anticuerpo
 30 agonista anti-C137, o un anticuerpo agonista anti-OX40), una terapia de células T TCR, o una terapia de células T CAR. En ciertas realizaciones, la enfermedad o trastorno es resistente a una quimioterapia (por ejemplo, una terapia a base de platino (por ejemplo, cisplatino, carboplatino u oxaliplatino), un inhibidor de la tirosina quinasa (por ejemplo, VEGFR, Raf) (por ejemplo, sorafenib), un agente inductor de daños en el ADN (por ejemplo, gemcitabina),

un agente hipometilante (por ejemplo, azacitidina) y/o una combinación de múltiples quimioterapias (por ejemplo, un doblete de platino o un régimen FOLFOX (por ejemplo, FOLFIRINOX o mFOLFOX6))). En ciertas realizaciones, la enfermedad o trastorno es recurrente después del tratamiento con quimioterapia (por ejemplo, una terapia basada en platino (por ejemplo, cisplatino, carboplatino u oxaliplatino), un inhibidor de la tirosina quinasa (por ejemplo, VEGFR, Raf) (por ejemplo, sorafenib), un daño en el ADN - agente inductor (por ejemplo, gemcitabina), un agente hipometilante (por ejemplo, azacitidina) y/o una combinación de múltiples quimioterapias (por ejemplo, un doblete de platino o un régimen FOLFOX (por ejemplo, FOLFIRINOX o mFOLFOX6))). En ciertas realizaciones, la enfermedad o trastorno es resistente a una terapia antiangiogénica (por ejemplo, bevacizumab). En ciertas realizaciones, la enfermedad o trastorno es recurrente después del tratamiento con una terapia antiangiogénica (por ejemplo, bevacizumab). En ciertas realizaciones, el tumor sólido es una enfermedad medible.

[00450] Los anticuerpos anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano) divulgados en el presente documento son particularmente útiles para inhibir la tolerancia del sistema inmunológico a los tumores y, por consiguiente, pueden usarse como inmunoterapia para sujetos con cáncer. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un método para tratar el cáncer en un sujeto, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad eficaz del anticuerpo, polinucleótido, vector, nanopartícula lipídica o composición farmacéutica, como se divulga en el presente documento.

[00451] Los cánceres que pueden tratarse con los anticuerpos anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), o composiciones farmacéuticas divulgados en el presente documento incluyen, sin limitación, un tumor sólido, un cáncer hematológico (por ejemplo, leucemia, linfoma, mieloma, por ejemplo, mieloma múltiple) y una lesión metastásica. En una realización, el cáncer es un tumor sólido. Los ejemplos de tumores sólidos incluyen malignidades, por ejemplo, sarcomas, sarcoma fibroblástico y carcinomas, por ejemplo, adenocarcinomas de los diversos sistemas de órganos, tales como los que afectan al pulmón, mama, ovario, linfoide, gastrointestinal (por ejemplo, colon), anal, genitales y tracto genitourinario (por ejemplo, renal, urotelial, células de la vejiga, próstata), faringe, SNC (por ejemplo, cerebro, células neurales o gliales), cabeza y cuello, piel (por ejemplo, melanoma) y páncreas, así como adenocarcinomas que incluyen neoplasias tales como cánceres de colon, cáncer de recto, carcinoma de células renales, cáncer de hígado, cáncer de pulmón (por ejemplo, cáncer de pulmón de células no pequeñas o cáncer de pulmón de células pequeñas), cáncer del intestino delgado y cáncer de esófago. El cáncer puede estar en una etapa temprana,

intermedia, tardía o metastásica. En ciertas realizaciones, el cáncer es resistente a una inmunoterapia, como un agente dirigido a puntos de control (por ejemplo, un anticuerpo antagonista anti-CTLA-4, un anticuerpo antagonista anti-PD-L1, un anticuerpo antagonista anti-PD-L2, o un anticuerpo antagonista anti-PD-1). En ciertas realizaciones, el cáncer es

5 recurrente luego del tratamiento con una inmunoterapia, como un agente dirigido a puntos de control (por ejemplo, un anticuerpo antagonista anti-CTLA-4, un anticuerpo antagonista anti-PD-L1, un anticuerpo antagonista anti-PD-L2, un anticuerpo antagonista anti-PD-1, un anticuerpo antagonista anti-TIM-3, un anticuerpo antagonista anti-LAG-3, un anticuerpo antagonista anti-CEACAM1, un anticuerpo agonista anti-GITR, un anticuerpo antagonista

10 anti-TIGIT, un anticuerpo antagonista anti-VISTA, un anticuerpo agonista anti-C137, o un anticuerpo agonista anti-OX40).

[00452] En una realización, el cáncer se elige entre cáncer de pulmón (por ejemplo, adenocarcinoma de pulmón o cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) (por ejemplo, NSCLC con histología escamosa y/o no escamosa, o adenocarcinoma de NSCLC)), melanoma

15 (por ejemplo, un melanoma avanzado), cáncer renal (por ejemplo, un carcinoma de células renales), cáncer de hígado (por ejemplo, carcinoma hepatocelular), mieloma (por ejemplo, un mieloma múltiple), un cáncer de próstata (por ejemplo, cáncer de próstata resistente a la castración), un cáncer de mama (por ejemplo, un cáncer de mama que no expresa uno, dos o todos los receptores de estrógeno, receptor de progesterona o Her2/neu, por ejemplo, un cáncer

20 de mama triple negativo), un cáncer de ovario, un cáncer colorrectal, un cáncer de páncreas, un cáncer de cabeza y cuello (por ejemplo, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC), glioblastoma (GBM), meningioma, cáncer de endometrio, cáncer gástrico o de estómago, cáncer suprarrenal, cáncer anal, cáncer gastroesofágico (por ejemplo, carcinoma de células escamosas de esófago), mesotelioma, cáncer nasofaríngeo, cáncer de tiroides, cáncer

25 de cuello uterino, cáncer epitelial, cáncer peritoneal o una enfermedad linfoproliferativa (por ejemplo, una enfermedad linfoproliferativa postrasplante). En una realización específica, el cáncer es un cáncer de cuello uterino.

[00453] En una realización, el cáncer es un cáncer hematológico, por ejemplo, una leucemia, un linfoma o un mieloma. En una realización, el cáncer es una leucemia, por ejemplo, leucemia

30 linfoblástica aguda (LLA) (por ejemplo, LLA sin células B), leucemia mielógena aguda (LMA), leucemia linfocítica crónica (LLC), leucemia mielógena crónica (LMC), leucemia mielomonocítica crónica (CMML) o leucemia de células pilosas. En una realización, el cáncer es un linfoma, por ejemplo, linfoma de células B, linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), linfoma difuso de células B grandes de tipo B activado (ABC), linfoma difuso de

- células B grandes del centro germinal (GCB), linfoma de células del manto, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, linfoma no Hodgkin recidivante, linfoma no Hodgkin refractario, linfoma folicular no Hodgkin recurrente, linfoma de Burkitt, linfoma linfocítico pequeño, linfoma linfático folicular, linfoma de zona extranodal o marginal enfermedad residual mínima. En una realización el cáncer es un mieloma, por ejemplo, mieloma múltiple.
- [00454]** En otra realización, el cáncer se elige entre un carcinoma (por ejemplo, carcinoma avanzado o metastásico), melanoma o carcinoma de pulmón, por ejemplo, un carcinoma de pulmón de células no pequeñas.
- [00455]** En una realización, el cáncer es un cáncer de pulmón, por ejemplo, un adenocarcinoma de pulmón, cáncer de pulmón de células no pequeñas o cáncer de pulmón de células pequeñas.
- [00456]** En una realización, el cáncer es un melanoma, por ejemplo, un melanoma avanzado. En una realización, el cáncer es un melanoma avanzado o irresecable que no responde a otras terapias. En otras realizaciones, el cáncer es un melanoma con una mutación BRAF (por ejemplo, una mutación BRAF V600). En otras realizaciones más, el anticuerpo anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) o composición farmacéutica divulgados en el presente documento, se administra después del tratamiento con un anticuerpo anti-CTLA-4 (por ejemplo, ipilimumab) con o sin un inhibidor de BRAF (por ejemplo, vemurafenib o dabrafenib).
- [00457]** En otra realización, el cáncer es un hepatocarcinoma, por ejemplo, un hepatocarcinoma avanzado, con o sin una infección viral, por ejemplo, una hepatitis viral crónica.
- [00458]** En otra realización, el cáncer es un cáncer de próstata, por ejemplo, un cáncer de próstata avanzado.
- [00459]** En otra realización más, el cáncer es un mieloma, por ejemplo, mieloma múltiple.
- [00460]** En otra realización más, el cáncer es un cáncer renal, por ejemplo, un carcinoma de células renales (RCC) (por ejemplo, un RCC metastásico, carcinoma de células renales de células claras (CCRCC) o carcinoma de células papilares de riñón).
- [00461]** En otra realización más, el cáncer se elige entre un cáncer de pulmón, un melanoma, un cáncer de riñón, un cáncer de mama, un cáncer colorrectal, una leucemia o una lesión metastásica del cáncer.
- [00462]** En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona un método para prevenir o tratar una enfermedad infecciosa en un sujeto, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón,

o cynomolgus) o composición farmacéutica del mismo, como se divulga en el presente documento. En una realización, se proporcionan en el presente documento métodos para prevenir y/o tratar una infección (por ejemplo, una infección viral, una infección bacteriana, una infección por hongos, una infección por protozoos o una infección parasitaria). La

5 infección prevenida y/o tratada de acuerdo con los métodos puede ser causada por un agente infeccioso identificado en el presente documento. En una realización específica, un anticuerpo anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) descrito en este documento o una composición del mismo es el único agente activo administrado a un sujeto. En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus)

10 descrito en el presente documento o una composición del mismo se usa en combinación con intervenciones antiinfecciosas (por ejemplo, antivirales, antibacterianos, antifúngicos o antihelmínticos) para el tratamiento de enfermedades infecciosas. Por lo tanto, en una realización, la presente invención se refiere a un anticuerpo y/o composición farmacéutica de la presente invención para su uso en un método de prevención y/o tratamiento de una

15 enfermedad infecciosa, opcionalmente donde el anticuerpo o composición farmacéutica es el único agente activo. administrado a un sujeto, o donde el anticuerpo o la composición farmacéutica se usa en combinación con intervenciones antiinfecciosas.

[00463] Enfermedades infecciosas que se pueden tratar y/o prevenir mediante anticuerpos anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) o composiciones farmacéuticas

20 divulgados en el presente documento son causadas por agentes infecciosos que incluyen, entre otros, bacterias, parásitos, hongos, protozoos y virus. En una realización específica, la enfermedad infecciosa tratada y/o prevenida con anticuerpos anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) o composiciones farmacéuticas divulgados en el presente documento es causada por un virus. Las enfermedades virales o infecciones virales que se

25 pueden prevenir y/o tratar de acuerdo con los métodos descritos en este documento incluyen, pero no se limitan a, las causadas por hepatitis tipo A, hepatitis tipo B, hepatitis tipo C, influenza (por ejemplo, Influenza A o influenza B), varicela, adenovirus, herpes simple tipo I (HSV-I), herpes simple tipo II (HSV-II), peste bovina, rinovirus, echovirus, rotavirus, virus respiratorio sincitial, virus del papiloma, virus de la papova, citomegalovirus, equinovirus,

30 arbovirus, huntavirus, virus coxsackie, virus de las paperas, virus del sarampión, virus de la rubéola, virus de la polio, viruela, virus de Epstein Barr, virus de inmunodeficiencia humana tipo I (VIH-I), virus de inmunodeficiencia humana tipo II (VIH-II) y agentes de enfermedades virales como meningitis viral, encefalitis, dengue o viruela.

[00464] Las infecciones bacterianas que se pueden prevenir y/o tratar incluyen infecciones causadas por *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus viridans* y *Pseudomonas aeruginosa*. Las enfermedades bacterianas causadas por bacterias (por ejemplo, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus viridans* y *Pseudomonas aeruginosa*) que pueden prevenirse y/o tratarse de acuerdo con los métodos en el presente documento descritos incluyen, pero no son limitado a, *Mycobacteria rickettsia*, *Mycoplasma*, *Neisseria*, *S. pneumonia*, *Borrelia burgdorferi* (enfermedad de Lyme), *Bacillus anthracis* (ántrax), tétanos, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *mycobacterium*, *pertissus*, leguminosas, plaga, difteria y *S. aureus*.

[00465] Las enfermedades por protozoos o infecciones por protozoos causadas por protozoos que pueden prevenirse y/o tratarse de acuerdo con los métodos descritos en este documento incluyen, pero no se limitan a, leishmania, coccidiosis, tripanosoma esquistosoma o malaria. Las enfermedades parasitarias o infecciones parasitarias causadas por parásitos que pueden prevenirse y/o tratarse de acuerdo con los métodos descritos en este documento incluyen, pero no se limitan a, clamidia y *rickettsia*.

[00466] Las enfermedades fúngicas o infecciones fúngicas que pueden prevenirse y/o tratarse de acuerdo con los métodos en el presente documento descritos incluyen, pero no se limitan a, las causadas por infecciones por *Candida*, cigomicosis, mastitis por *Candida*, tricosporonosis diseminada progresiva con tricosporonemia latente, diseminada candidiasis, paracoccidioidomicosis pulmonar, aspergilosis pulmonar, neumonía por *Pneumocystis carinii*, meningitis criptocócica, meningoencefalitis coccidioidea y vasculitis cerebroespinal, infección por *Aspergillus niger*, *Fusarium keratitis*, micosis de los senos paranasales, endocarditis por *Aspergillus fumigatus*, discondroplasia tibial, vaginitis por *Candida glabrata*, candidiasis orofaríngea, enfermedad granulomatosa crónica ligada al cromosoma X, tinea pedis, candidiasis cutánea, placentitis micótica, tricosporonosis diseminada, aspergilosis broncopulmonar alérgica, queratitis micótica, infección por *Cryptococcus neoformans*, peritonitis fúngica, infección por *Curvularia geniculata*, endoftalmitis estafilocócica, esporotricosis y dermatofitosis.

[00467] En ciertas realizaciones, Los anticuerpos anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) o composiciones farmacéuticas divulgados en el presente documento se administran al sujeto como monoterapia.

[00468] En ciertas realizaciones, Estos métodos comprenden además la administración de un agente terapéutico adicional al sujeto. En ciertas realizaciones, el agente terapéutico

adicional comprende un agente quimioterapéutico. En ciertas realizaciones, el agente quimioterapéutico comprende un agente hipometilante (por ejemplo, azacitidina). En ciertas realizaciones, el agente quimioterapéutico comprende un agente inductor de daño en el ADN (por ejemplo, gemcitabina). En ciertas realizaciones, el agente quimioterapéutico comprende una terapia basada en platino (por ejemplo, cisplatino, carboplatino u oxaliplatino). En ciertas realizaciones, el agente quimioterapéutico comprende un inhibidor de tirosina quinasa (por ejemplo, VEGFR, Raf) (por ejemplo, sorafenib). En ciertas realizaciones, el agente quimioterapéutico comprende una combinación de múltiples quimioterapias (por ejemplo, un doblete de platino o un régimen FOLFOX (por ejemplo, FOLFIRINOX o mFOLFOX6)). En ciertas realizaciones, el agente terapéutico adicional comprende una terapia anti-angiogénica (por ejemplo, bevacizumab). En ciertas realizaciones, el agente terapéutico adicional comprende un conjugado anticuerpo-fármaco. En ciertas realizaciones, el agente terapéutico adicional comprende un agente radioterapéutico. En ciertas realizaciones, el agente terapéutico adicional es capaz de provocar la muerte celular inmunogénica (por ejemplo, muerte de las células tumorales).

[00469] En ciertas realizaciones, el agente terapéutico adicional comprende un agente de dirección de puntos de control. En ciertas realizaciones, el agente de selección del punto de control se selecciona del grupo que consiste en un anticuerpo antagonista anti-CTLA-4, un anticuerpo antagonista anti-PD-L1, un anticuerpo antagonista anti-PD-L2, un anticuerpo antagonista anti-PD-1, un anticuerpo antagonista anti-TIM-3, un anticuerpo antagonista anti-LAG-3, un anticuerpo antagonista anti-TIGIT, un anticuerpo antagonista anti-VISTA, un anticuerpo antagonista de anti-CD96, un anticuerpo antagonista anti-CEACAM1, un anticuerpo agonista anti-C137, un anticuerpo agonista anti-GITR, y un anticuerpo agonista anti-OX40. En ciertas realizaciones, el agente de selección del punto de control se selecciona del grupo que consiste en un anticuerpo antagonista anti-CTLA-4, un anticuerpo antagonista anti-PD-L1, un anticuerpo antagonista anti-PD-L2, y un anticuerpo antagonista anti-PD-1, en donde los anticuerpos anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) o composiciones farmacéuticas divulgados en el presente documento se sinergizan con el agente de orientación del punto de control.

[00470] En una realización, la presente invención se refiere a un anticuerpo y/o composición farmacéutica de la presente invención para su uso en un método de la presente invención, en el que el método comprende además la administración de un agente terapéutico adicional al sujeto. En una realización, la presente invención se refiere a (a) un anticuerpo y/o composición farmacéutica de la presente invención y (b) un agente terapéutico adicional para su uso como

medicamento. En una realización, la presente invención se refiere a (a) un anticuerpo y/o composición farmacéutica de la presente invención y (b) un agente terapéutico adicional para usar en un método para el tratamiento del cáncer. En una realización adicional, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica, kit o kit de partes que comprende (a) un anticuerpo y/o composición farmacéutica de la presente invención y (b) un agente terapéutico adicional. En una realización, el agente terapéutico adicional es un agente quimioterapéutico, radioterapéutico o de control de objetivos.

[00471] En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti-PD-1 se utiliza en métodos divulgados en el presente documento. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es nivolumab, también conocido como BMS-936558 o MDX1106, desarrollado por Bristol-Myers Squibb. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es pembrolizumab, también conocido como lambrolizumab o MK-3475, desarrollado por Merck & Co. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es pidilizumab, también conocido como CT-011, desarrollado por CureTech. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es MEDI0680, también conocido como AMP-514, desarrollado por Medimmune. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es PDR001 desarrollado por Novartis Pharmaceuticals. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es REGN2810 desarrollado por Regeneron Pharmaceuticals. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es PF-06801591 desarrollado por Pfizer. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es BGB-A317 desarrollado por BeiGene. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es TSR-042 desarrollado por AnaptysBio y Tesaro. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es SHR-1210 desarrollado por Hengrui.

[00472] Otros ejemplos no limitativos de anticuerpos anti-PD-1 que pueden usarse en métodos de tratamiento divulgados en el presente documento se describen en las siguientes patentes y solicitudes de patente, todas las cuales se incorporan en el presente documento como referencia en su totalidad para todos los propósitos: Patente EE.UU. No. 6,808,710; Patente EE.UU. No. 7,332,582; Patente EE.UU. No. 7,488,802; Patente EE.UU. No. 8,008,449; Patente EE.UU. No. 8,114,845; Patente EE.UU. No. 8,168,757; Patente EE.UU. No. 8,354,509; Patente EE.UU. No. 8,686,119; Patente EE.UU. No. 8,735,553; Patente EE.UU. No. 8,747,847; Patente EE.UU. No. 8,779,105; Patente EE.UU. No. 8,927,697; Patente EE.UU. No. 8,993,731; Patente EE.UU. No. 9,102,727; Patente EE.UU. No. 9,205,148; Publicación EE.UU. No. US 2013/0202623 A1; Publicación EE.UU. No. US 2013/0291136 A1; Publicación EE.UU. No. US 2014/0044738 A1; Publicación EE.UU. No. US 2014/0356363 A1; Publicación EE.UU. No. US 2016/0075783 A1; y Publicación PCT No. WO 2013/033091 A1; Publicación PCT No. WO 2015/036394 A1; Publicación PCT No. WO

2014/179664 A2; Publicación PCT No. WO 2014/209804 A1; Publicación PCT No. WO 2014/206107 A1; Publicación PCT No. WO 2015/058573 A1; Publicación PCT No. WO 2015/085847 A1; Publicación PCT No. WO 2015/200119 A1; Publicación PCT No. WO 2016/015685 A1; y Publicación PCT No. WO 2016/020856 A1.

5 **[00473]** En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti-PD-L1 se utiliza en métodos divulgados en el presente documento. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-L1 es atezolizumab desarrollado por Genentech. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-L1 es durvalumab desarrollado por AstraZeneca, Celgene y Medimmune. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-L1 es avelumab, también conocido como MSB0010718C, desarrollado por Merck
10 Serono y Pfizer. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-L1 es MDX-1105 desarrollado por Bristol-Myers Squibb. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-L1 es AMP-224 desarrollado por Amplimmune y GSK.

[00474] Los ejemplos no limitantes de anticuerpos anti-PD-L1 que pueden usarse en métodos de tratamiento divulgados en el presente documento se describen en las siguientes
15 patentes y solicitudes de patente, todos los cuales se incorporan en el presente documento como referencia en su totalidad para todos los propósitos: Patente EE.UU. No. 7,943,743; Patente EE.UU. No. 8,168,179; Patente EE.UU. No. 8,217,149; Patente EE.UU. No. 8,552,154; Patente EE.UU. No. 8,779,108; Patente EE.UU. No. 8,981,063; Patente EE.UU. No. 9,175,082; Publicación EE.UU. No. US 2010/0203056 A1; Publicación EE.UU. No. US
20 2003/0232323 A1; Publicación EE.UU. No. US 2013/0323249 A1; Publicación EE.UU. No. US 2014/0341917 A1; Publicación EE.UU. No. US 2014/0044738 A1; Publicación EE.UU. No. US 2015/0203580 A1; Publicación EE.UU. No. US 2015/0225483 A1; Publicación EE.UU. No. US 2015/0346208 A1; Publicación EE.UU. No. US 2015/0355184 A1; y Publicación PCT No. WO 2014/100079 A1; Publicación PCT No. WO 2014/022758 A1;
25 Publicación PCT No. WO 2014/055897 A2; Publicación PCT No. WO 2015/061668 A1; Publicación PCT No. WO 2015/109124 A1; Publicación PCT No. WO 2015/195163 A1; Publicación PCT No. WO 2016/000619 A1; y Publicación PCT No. WO 2016/030350 A1.

[00475] En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti-CTLA-4 se utiliza en métodos divulgados en el presente documento. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es
30 ipilimumab desarrollado por Bristol-Myers Squibb.

[00476] En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) divulgado en el presente documento se administra a un sujeto en combinación con un compuesto que se dirige a una(s) enzima(s) inmunomoduladora(s) como IDO (indolamina- (2,3) -dioxigenasa) y/o TDO (triptófano 2,3-dioxigenasa). Por tanto, en una

realización, el agente terapéutico adicional es un compuesto que se dirige a una(s) enzima(s) inmunomoduladora(s), tal como un inhibidor de la indolamina- (2,3) -dioxigenasa (IDO). En ciertas realizaciones, tal compuesto se selecciona del grupo que consiste en epacadostat (Incyte Corp; ver, por ejemplo, WO 2010/005958 el cual se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad), F001287 (Flexus Biosciences/Bristol-Myers Squibb), indoximod (NewLink Genetics), y NLG919 (NewLink Genetics). En una realización, el compuesto es epacadostat. En otra realización, el compuesto es F001287. En otra realización, el compuesto es indoximod. En otra realización, el compuesto es NLG919. En una realización específica, un anticuerpo anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano) divulgado en el presente documento se administra a un sujeto en combinación con un inhibidor de IDO para tratar el cáncer. El inhibidor de IDO como se describe en este documento para su uso en el tratamiento del cáncer está presente en una forma de dosificación sólida de una composición farmacéutica tal como un comprimido, una píldora o una cápsula, en la que la composición farmacéutica incluye un inhibidor de IDO y un excipiente farmacéuticamente aceptable. Como tal, el anticuerpo como se describe en este documento y el inhibidor de IDO como se describe en este documento se pueden administrar por separado, secuencialmente o simultáneamente como formas de dosificación separadas. En una realización, el anticuerpo se administra por vía parenteral y el inhibidor de IDO se administra por vía oral. En realizaciones particulares, el inhibidor se selecciona del grupo que consiste en epacadostat (Incyte Corporation), F001287 (Flexus Biosciences/Bristol-Myers Squibb), indoximod (NewLink Genetics), y NLG919 (NewLink Genetics). Epacadostat se ha descrito en la Publicación PCT No. WO 2010/005958, la cual se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad para todos los propósitos. En una realización, el inhibidor es epacadostat. En otra realización, el inhibidor es F001287. En otra realización, el inhibidor es indoximod. En otra realización, el inhibidor es NLG919.

[00477] En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) divulgado en el presente documento se administra a un sujeto en combinación con una vacuna. La vacuna puede ser, por ejemplo, una vacuna peptídica, una vacuna de ADN o una vacuna de ARN. En ciertas realizaciones, la vacuna es una vacuna tumoral basada en proteínas de choque térmico o una vacuna patógena basada en proteínas de choque térmico. En una realización específica, un anticuerpo anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) divulgado en el presente documento se administra a un sujeto en combinación con una vacuna tumoral basada en proteínas de choque térmico. Las proteínas de choque térmico (HSP) son una familia de proteínas altamente conservadas que se encuentran de forma ubicua en todas las especies. Su expresión puede inducirse poderosamente a niveles

mucho más altos como resultado del choque térmico u otras formas de estrés, incluida la exposición a toxinas, estrés oxidativo o privación de glucosa. Se han clasificado cinco familias según el peso molecular: HSP-110, -90, -70, -60 y -28. Las HSP liberan péptidos inmunogénicos a través de la vía de presentación cruzada en células presentadoras de antígenos (APC) como macrófagos y células dendríticas (DC), lo que conduce a la activación de las células T. Las HSP funcionan como acompañantes portadores de péptidos antigénicos asociados a tumores que forman complejos capaces de inducir inmunidad específica de tumores. Tras la liberación de las células tumorales moribundas, los complejos HSP-antígeno son absorbidos por las células presentadoras de antígenos (APC) en las que los antígenos se procesan en péptidos que se unen a moléculas de MHC de clase I y clase II que conducen a la activación de células T CD8 + y CD4 + antitumorales. La inmunidad provocada por los complejos HSP derivados de preparaciones tumorales se dirige específicamente contra el repertorio de péptidos antigénicos único expresado por el cáncer de cada sujeto. Por tanto, en una realización, la presente invención se refiere a (a) un anticuerpo y/o composición farmacéutica de la presente invención y (b) una vacuna para usar como medicamento, por ejemplo, para usar en un método para el tratamiento del cáncer. En una realización, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica, kit o kit de partes que comprende (a) un anticuerpo y/o composición farmacéutica de la presente invención y (b) una vacuna. En una realización, la vacuna es una vacuna contra el tumor basada en proteínas de choque térmico. En una realización, la vacuna es una vacuna patógena basada en proteínas de choque térmico. En ciertas realizaciones, la vacuna es como se describe en el documento WO 2016/183486, incorporado en el presente documento como referencia en su totalidad.

[00478] Un complejo peptídico proteico de choque térmico (HSPPC) es un complejo peptídico proteico que consiste en una proteína de choque térmico complejada no covalentemente con péptidos antigénicos. Las HSPPC provocan respuestas inmunitarias tanto innatas como adaptativas. En una realización específica, el péptido o péptidos antigénicos muestran antigenicidad para el cáncer que se está tratando. Las HSPPC son capturadas de manera eficiente por las APC a través de receptores de membrana (principalmente CD91) o mediante la unión a receptores de tipo Toll. La internalización de HSPPC da como resultado la maduración funcional de las APC con producción de quimiocinas y citocinas que conducen a la activación de células asesinas naturales (NK), monocitos y respuestas inmunitarias mediadas por Th1 y Th-2. En ciertas realizaciones, Las HSPPC usadas en métodos divulgados en el presente documento comprenden una o más proteínas de choque térmico de la familia de proteínas de estrés hsp60, hsp70 o hsp90 complejadas con péptidos antigénicos. En ciertas

realizaciones, las HSPPC comprenden hsc70, hsp70, hsp90, hsp110, grp170, gp96, calreticulina o combinaciones de dos o más de las mismas.

[00479] En una realización específica, el complejo peptídico de proteína de choque térmico (HSPPC) comprende proteínas de choque térmico recombinantes (por ejemplo, hsp70 o hsc70) o un dominio de unión a péptido de las mismas complejoado con péptidos antigénicos recombinantes. Las proteínas de choque térmico recombinantes se pueden producir mediante tecnología de ADN recombinante, por ejemplo, utilizando la secuencia humana hsc70 como se describe en Dworniczak y Mirault, *Nucleic Acids Res.* 15:5181-5197 (1987) y GenBank accession no. P11142 y/o Y00371, cada uno de los cuales se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad. En ciertas realizaciones, las secuencias de Hsp70 son como se describe en Hunt y Morimoto *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 82 (19), 6455-6459 (1985) y GenBank accession no. P0DMV8 y/o M11717, cada uno de los cuales se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad. Los péptidos antigénicos también se pueden preparar mediante métodos de ADN recombinante conocidos en la técnica.

[00480] En ciertas realizaciones, los péptidos antigénicos comprenden un aminoácido modificado. En ciertas realizaciones, el aminoácido modificado comprende una modificación postraducciona. En ciertas realizaciones, el aminoácido modificado comprende un mimético de una modificación postraducciona. En ciertas realizaciones, el aminoácido modificado es un Tyr, Ser, Thr, Arg, Lys o His que se ha fosforilado en un hidroxilo o amina de cadena lateral. En ciertas realizaciones, el aminoácido modificado es un mimético de un aminoácido Tyr, Ser, Thr, Arg, Lys o His que ha sido fosforilado en una cadena lateral de hidroxilo o amina.

[00481] En una realización específica, un anticuerpo anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) antibody divulgado en el presente documento se administra a un sujeto en combinación con un complejo peptídico proteico de choque térmico (HSPPC), por ejemplo, complejo peptídico proteico de choque térmico 96 (HSPPC-96), para tratar el cáncer. HSPPC-96 comprende una proteína de choque térmico (Hsp) de 96 kDa, gp96, complejada con péptidos antigénicos. HSPPC-96 es una inmunoterapia contra el cáncer fabricada a partir del tumor de un sujeto y contiene la "huella digital" antigénica del cáncer. En ciertas realizaciones, esta huella digital contiene antígenos únicos que están presentes solo en las células cancerosas específicas de ese sujeto en particular y la inyección de la vacuna tiene como objetivo estimular el sistema inmunológico del sujeto para reconocer y atacar cualquier célula con la huella digital específica del cáncer. Por lo tanto, en una realización, la presente invención se refiere a un anticuerpo y/o composición farmacéutica de la presente invención en combinación con un complejo peptídico de proteína de choque térmico (HSPPC) para usar como medicamento y/o

para usar en un método para el tratamiento. de cáncer.

- [00482]** En ciertas realizaciones, la HSPPC, por ejemplo, HSPPC-96, se produce a partir del tejido tumoral de un sujeto. En una realización específica, la HSPPC (por ejemplo, HSPPC-96) se produce a partir de un tumor del tipo de cáncer o metástasis del mismo que se está tratando.
- 5 En otra realización específica, la HSPPC (por ejemplo, HSPPC-96) es autóloga del sujeto que está siendo tratado. En ciertas realizaciones, el tejido tumoral es tejido tumoral no necrótico. En ciertas realizaciones, al menos 1 gram (por ejemplo, al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, o al menos 10 gramos) de tejido tumoral no necrótico se utiliza para producir un régimen de vacuna. En ciertas
- 10 realizaciones, después de la resección quirúrgica, el tejido tumoral no necrótico se congela antes de su uso en la preparación de la vacuna. En ciertas realizaciones, la HSPPC, por ejemplo, HSPPC-96, se aísla del tejido tumoral mediante técnicas de purificación, se filtra y se prepara para una vacuna inyectable. En ciertas realizaciones, a un sujeto se le administran 6-12 dosis del HSPPC, por ejemplo, HSPPC-96. En tales realizaciones, las dosis de HSPPC, por ejemplo,
- 15 HSPPC-96, pueden administrarse semanalmente para las primeras 4 dosis y luego cada dos semanas para las 2-8 dosis adicionales.

- [00483]** En las siguientes patentes y solicitudes de patente se describen otros ejemplos de HSPPC que se pueden utilizar de acuerdo con los métodos descritos en este documento, todos los cuales se incorporan en el presente documento como referencia en su totalidad: Patente
- 20 EE.UU. Nos. 6,391,306, 6,383,492, 6,403,095, 6,410,026, 6,436,404, 6,447,780, 6,447,781 y 6,610,659. Los ejemplos de HSPPC incluyen, sin limitación Prophage™, AutoSynVax™, y PhosphoSynVax™.

- [00484]** En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) divulgado en el presente documento se administra a un sujeto en
- 25 combinación con un adyuvante. Se pueden usar varios adyuvantes dependiendo del contexto del tratamiento. Los ejemplos no limitantes de adyuvantes apropiados incluyen, pero no se limitan a, adyuvante completo de Freund (CFA), adyuvante incompleto de Freund (IFA), montanida ISA (adyuvante séptico incompleto), el sistema adyuvante Ribi (RAS), Titer Max, péptidos de muramilo, Formulación de adyuvante Syntex (SAF), alumbre (hidróxido de
- 30 aluminio y/o fosfato de aluminio), adyuvantes de sal de aluminio, adyuvantes Gerbu®, antígeno absorbido por nitrocelulosa, antígeno encapsulado o atrapado, monofosforil lípido A 3 des-O-acilado (3 D-MPL), oligonucleótidos inmunoestimuladores, ligandos del receptor toll-like (TLR), ligandos de lectina de unión a manano (MBL), agonistas de STING, complejos inmunoestimulantes como las saponinas, Quil A, QS-21, QS-7, ISCOMATRIX, y otros. Otros

adyuvantes incluyen oligonucleótidos CpG y moléculas de ARN bicatenario, como poli (A) y poli (U). También se pueden usar combinaciones de los adyuvantes anteriores. Ver, por ejemplo, Patente EE.UU. Nos. 6,645,495; 7,029,678; y 7,858,589, todos los cuales se incorporan en el presente documento como referencia en su totalidad. En una realización, el

5 adyuvante utilizado en el presente documento es QS-21 STIMULON.

[00485] En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) divulgado en el presente documento se administra a un sujeto en combinación con un agente terapéutico adicional que comprende un TCR. En ciertas realizaciones, el agente terapéutico adicional es un TCR soluble. En ciertas realizaciones, el

10 agente terapéutico adicional es una célula que expresa un TCR. Por lo tanto, en una realización, la presente invención se refiere a un anticuerpo y/o composición farmacéutica de la presente invención en combinación con un agente terapéutico adicional que comprende un TCR para usar como medicamento y/o para usar en un método para el tratamiento del cáncer.

[00486] En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) divulgado en el presente documento se administra a un sujeto en combinación con una célula que expresa un receptor de antígeno quimérico (CAR). En ciertas realizaciones, la célula es una célula T. Se proporcionan ejemplos de terapias de células T-CAR en Pettitt *et al.* (2017) *Molecular Therapy* 26(2):342-53, que se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad. En ciertas realizaciones, la terapia con células T

20 CAR comprende una terapia de células T CAR CD19 (por ejemplo, YESCARTA™ y KYMRIAH™). En ciertas realizaciones, el sujeto tiene un cáncer CD19 + (por ejemplo, una neoplasia maligna hematológica CD19 +). En ciertas realizaciones, este tipo de cáncer CD19 + es resistente a la terapia de células T con CAR solo. En ciertas realizaciones, sujetos que tienen un tumor o indicación clínica en los que la tasa de respuesta a una terapia con células T

25 con CAR no es mayor a 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, o menos, son seleccionados para el tratamiento con el anticuerpo y/o composición farmacéutica divulgados en el presente documento, solo o en combinación con la terapia con células T CAR. En ciertas realizaciones, un sujeto que tiene un linfoma difuso de células B grandes no especificado de otra manera (DLBCL-nos), linfoma mediastínico primario de células B grandes, linfoma de

30 células B de alto grado o DLBCL que surge de un linfoma folicular se selecciona para el tratamiento con el anticuerpo y/o composición farmacéutica divulgados en el presente documento, solo o en combinación con una terapia de células T CAR CD19 (por ejemplo, YESCARTA™). En ciertas realizaciones, se selecciona un sujeto que tiene LLA de precursores de células B para el tratamiento con el anticuerpo y/o composición farmacéutica divulgados en

el presente documento, solo o en combinación con una terapia de células T CAR CD19 (por ejemplo, KYMRIAH™). En ciertas realizaciones, el sujeto ha tenido una respuesta inadecuada a pesar de exhibir una expansión adecuada de la terapia con células T CAR infundidas.

[00487] En realizaciones específicas, el cáncer CD19 + es una neoplasia maligna hematológica CD19 +. En ciertas realizaciones, la neoplasia maligna hematológica CD19 + es una LLA no precursora de células B (por ejemplo, Linfoma difuso de células B grandes o linfoma de células del manto). En ciertas realizaciones, el cáncer CD19 + es resistente o recurrente después del tratamiento con un tratamiento previo (por ejemplo, una terapia con anticuerpos monoclonales anti-CD20 o un régimen de quimioterapia que contiene antraciclina). En ciertas realizaciones, el sujeto tiene una respuesta inadecuada a al menos una infusión de una terapia de células T CAR CD19 (por ejemplo, YESCARTA™ o KYMRIAH™). En ciertas realizaciones, el sujeto tiene una enfermedad medible.

[00488] En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) divulgado en el presente documento se administra a un sujeto en combinación con un anticuerpo imitador de TCR. En ciertas realizaciones, el anticuerpo mimético de TCR es un anticuerpo que se une específicamente a un complejo péptido-MHC. Para ejemplos no limitantes de anticuerpos imitadores de TCR, ver, por ejemplo, Patente EE.UU. No. 9,074,000 y Publicación EE.UU. Nos. US 2009/0304679 A1 y US 2014/0134191 A1, todos los cuales se incorporan en el presente documento como referencia en su totalidad.

[00489] En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) divulgado en el presente documento se administra a un sujeto en combinación con un elemento de encaje de células T biespecífico (BiTE) (por ejemplo, como se describe en WO2005061547A2, que se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad) y/o un anticuerpo de reorientación de doble afinidad (DART) (por ejemplo, como se describe en WO2012162067A2, que se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad). En ciertas realizaciones, el BiTE y/o DART son específicamente un antígeno asociado a un tumor (por ejemplo, un polipéptido sobreexpresado en un tumor, un polipéptido derivado de un oncovirus, un polipéptido que comprende una modificación postraducciona específica de un tumor, un polipéptido mutado específicamente en un tumor) y una molécula en una célula efectora (por ejemplo, CD3 o CD16). En ciertas realizaciones, el antígeno asociado al tumor es EGFR (por ejemplo, EGFR humano), en el que opcionalmente BiTE y/o DART comprenden las secuencias VH y VL de cetuximab. En ciertas realizaciones, el antígeno asociado al tumor es Her2 (por ejemplo, Her2 humano), en el que opcionalmente BiTE y/o DART comprenden las secuencias VH y VL de trastuzumab. En ciertas realizaciones,

el antígeno asociado al tumor es CD20 (por ejemplo, CD20 humano).

- [00490]** El anticuerpo anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) y el agente terapéutico adicional (por ejemplo, quimioterapéutico, radioterapéutico, agente de dirección de puntos de control, inhibidor de IDO, vacuna, adyuvante, un TCR soluble, una
- 5 célula que expresa un TCR, una célula que expresa un receptor de antígeno quimérico y/o un anticuerpo imitador de TCR) puede ser administrado por separado, secuencial o simultáneamente como formas de dosificación separadas. En una realización, un anticuerpo anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) se administra por vía parenteral, y un inhibidor de IDO se administra por vía oral.
- 10 **[00491]** Un anticuerpo o una composición farmacéutica descrita en el presente documento puede administrarse a un sujeto mediante una variedad de rutas. Estos incluyen, pero no se limitan a, las rutas parenteral, intranasal, intratraqueal, oral, intradérmica, tópica, intramuscular, intraperitoneal, transdérmica, intravenosa, intratumoral, conjuntival, intraarterial y subcutánea. También se puede emplear la administración pulmonar, por ejemplo,
- 15 mediante el uso de un inhalador o nebulizador, y una formulación con un agente aerosolizante para su uso como pulverizador. En ciertas realizaciones, el anticuerpo o la composición farmacéutica descrita en este documento se administra por vía subcutánea o intravenosa. En ciertas realizaciones, el anticuerpo o composición farmacéutica descrita en este documento se administra por vía intraarterial. En ciertas realizaciones, el anticuerpo o composición
- 20 farmacéutica descrita en este documento se administra por vía intratumoral. En ciertas realizaciones, el anticuerpo o composición farmacéutica descrita en el presente documento se administra a un ganglio linfático que drena el tumor.
- [00492]** La cantidad de un anticuerpo o composición que será eficaz en el tratamiento y/o prevención de una afección dependerá de la naturaleza de la enfermedad, y puede determinarse
- 25 por técnicas clínicas estándar.
- [00493]** La dosis precisa a emplear en una composición también dependerá de la vía de administración y la gravedad de la infección o enfermedad causada por ella, y debe decidirse según el criterio del médico y las circunstancias de cada sujeto. Por ejemplo, las dosis efectivas también pueden variar dependiendo del medio de administración, el sitio objetivo, el estado
- 30 fisiológico del paciente (incluida la edad, el peso corporal y la salud), si el paciente es un ser humano o un animal, otros medicamentos administrados o si el tratamiento es profiláctico o terapéutico. Normalmente, el paciente es un humano, pero también pueden tratarse mamíferos no humanos, incluidos mamíferos transgénicos. Las dosis de tratamiento se titulan de manera óptima para optimizar la seguridad y la eficacia.

[00494] Un anticuerpo anti-CD73 (por ejemplo, human. ratón, o CD73 cynomolgus) descrito en el presente documento también se puede usar para analizar los niveles de proteína CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) en una muestra biológica usando métodos inmunohistológicos clásicos conocidos por los expertos en la técnica, incluidos

5 inmuoensayos, tales como el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), inmunoprecipitación o transferencia Western. Los marcadores de ensayo de anticuerpos adecuados se conocen en la técnica e incluyen marcadores de enzimas, tales como glucosa oxidasa; radioisótopos, tales como yodo (^{125}I , ^{121}I), carbono (^{14}C), azufre (^{35}S), tritio (^3H), indio (^{121}In) y tecnecio (^{99}Tc); etiquetas luminiscentes, como luminol; y marcadores fluorescentes,

10 como fluoresceína y rodamina y biotina. Dichos marcadores pueden usarse para marcar un anticuerpo descrito en este documento. Alternativamente, un segundo anticuerpo que reconoce un anticuerpo anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) descrito en este documento se puede etiquetar y utilizar en combinación con un anticuerpo anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) para detectar los niveles de proteína CD73 (por

15 ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus). Por tanto, en una realización, la presente invención se refiere al uso de un anticuerpo de la presente invención para la detección in vitro de proteína CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) en una muestra biológica. En una realización adicional, la presente invención se refiere al uso de un anticuerpo anti-CD73 de la invención, para analizar y/o detectar niveles de proteína CD73 (por ejemplo, CD73

20 humano, ratón, o cynomolgus) en una muestra biológica in vitro, opcionalmente donde el anticuerpo anti-CD73 está conjugado con un radionúclido o marcador detectable, y/o lleva un marcador descrito en el presente documento, y/o donde se usa un método inmunohistológico.

[00495] El análisis del nivel de expresión de la proteína CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) pretende incluir medir o estimar cualitativa o cuantitativamente el nivel

25 de proteína CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) en una primera muestra biológica ya sea directamente (por ejemplo, determinando o estimando el nivel absoluto de proteína) o relativamente (por ejemplo, comparando con el nivel de proteína asociado a la enfermedad en una segunda muestra biológica). El nivel de expresión del polipéptido CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) en la primera muestra biológica se puede

30 medir o estimar y comparar con un nivel de proteína estándar CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), tomando el estándar, por ejemplo, de una segunda muestra biológica obtenida de un individuo que no tiene el trastorno o que se determina promediando los niveles de una población de individuos que no padece el trastorno. Como se apreciará en la técnica, una vez que se conoce el nivel de polipéptido CD73 "estándar" (por ejemplo, CD73

humano, ratón, o cynomolgus), puede usarse repetidamente como un estándar para la comparación. Por lo tanto, en una realización adicional, la presente invención se refiere a un método *in vitro* para analizar y/o detectar niveles de proteína CD73, por ejemplo niveles de proteína CD73 humano, en una muestra biológica, que comprende medir o estimar

5 cualitativa o cuantitativamente el nivel de proteína CD73, por ejemplo de proteína humano CD73, en una muestra biológica, por un método inmunohistológico.

[00496] Como se usa en este documento, el término "muestra biológica" se refiere a cualquier muestra biológica obtenida de un sujeto, línea celular, tejido u otra fuente de células que potencialmente expresan CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus). Los

10 métodos para obtener biopsias de tejidos y fluidos corporales de animales (por ejemplo, humanos o monos cynomolgus) son bien conocidos en la técnica. Las muestras biológicas incluyen células sanguíneas mononucleares periféricas.

[00497] Un anticuerpo anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) descrito en el presente documento se pueden utilizar para aplicaciones de pronóstico,

15 diagnóstico, seguimiento y cribado, incluidas aplicaciones *in vitro* e *in vivo* bien conocidas y estándar para el experto en la materia y basadas en la presente descripción. Los kits y ensayos de pronóstico, diagnóstico, monitoreo y detección para la evaluación *in vitro* y la evaluación del estado del sistema inmunológico y/o la respuesta inmune se pueden utilizar para predecir, diagnosticar y monitorear para evaluar muestras de pacientes, incluidas aquellas que se sabe

20 que tienen o se sospecha que tienen un sistema inmunológico-disfunción o con respecto a una respuesta anticipada o deseada del sistema inmunológico, respuesta antigénica o respuesta a la vacuna. La valoración y evaluación del estado del sistema inmunológico y/o la respuesta inmunitaria también es útil para determinar la idoneidad de un paciente para un ensayo clínico de un fármaco o para la administración de un agente quimioterapéutico, un agente

25 radioterapéutico o un anticuerpo en particular, incluidas las combinaciones. del mismo, frente a un agente o anticuerpo diferente. Este tipo de seguimiento y evaluación de pronóstico y diagnóstico ya se utiliza en la práctica con anticuerpos contra la proteína HER2 en el cáncer de mama (HercepTest™, Dako), donde el ensayo también se utiliza para evaluar a los pacientes para la terapia de anticuerpos con Herceptin®. Las aplicaciones *in vivo* incluyen terapia celular

30 dirigida y modulación del sistema inmunológico y radiografía de respuestas inmunes. Por lo tanto, en una realización, la presente invención se refiere a un anticuerpo anti-CD73 y/o una composición farmacéutica de la presente invención para su uso como diagnóstico. En una realización, la presente invención se refiere a un anticuerpo anti-CD73 y/o composición farmacéutica de la presente invención para su uso en un método para la predicción, diagnóstico

y/o monitorización de un sujeto que tiene o se sospecha que tiene una disfunción del sistema inmunológico. y/o con respecto a una respuesta anticipada o deseada del sistema inmunológico, respuesta antigénica o respuesta a la vacuna. En otra realización, la presente invención se refiere al uso del anticuerpo anti-CD73 de la invención, para predecir, diagnosticar y/o

5 monitorear un sujeto que tiene o se sospecha que tiene una disfunción del sistema inmunológico y/o con respecto a una respuesta anticipada o deseada del sistema inmunológico, respuesta al antígeno o respuesta a la vacuna ensayando y/o detectando niveles de proteína humano CD73 en una muestra biológica del sujeto *in vitro*.

[00498] En una realización, un anticuerpo anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o

10 cynomolgus) se puede utilizar en inmunohistoquímica de muestras de biopsia. En una realización, el método es un método *in vitro*. En otra realización, un anticuerpo anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) se puede utilizar para detectar niveles de CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), o niveles de células que contienen CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) en la superficie de su membrana, cuyos

15 niveles se pueden relacionar con ciertos síntomas de la enfermedad. Los anticuerpos anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) descritos en el presente documento pueden llevar un marcador detectable o funcional y/o pueden estar conjugados con un radionúclido o marcador detectable. Cuando se utilizan marcadores de fluorescencia, se pueden utilizar microscopía actualmente disponible y análisis clasificador de células activado por

20 fluorescencia (FACS) o una combinación de ambos procedimientos, procedimientos conocidos en la técnica para identificar y cuantificar los miembros de unión específico. Los anticuerpos anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) descritos en este documento pueden portar o pueden estar conjugados con un marcador de fluorescencia. Los marcadores de fluorescencia ejemplares incluyen, por ejemplo, sondas reactivas y conjugadas, por ejemplo,

25 aminocumarina, fluoresceína y rojo Texas, tintes Alexa Fluor, tintes Cy y tintes DyLight. Un anticuerpo anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) puede portar o conjugar un marcador radiactivo o radionúclido, como los isótopos ^3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{51}Cr , ^{57}Co , ^{58}Co , ^{59}Fe , ^{67}Cu , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{117}Lu , ^{121}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I , ^{198}Au , ^{211}At , ^{213}Bi , ^{225}Ac y ^{186}Re . Cuando se utilizan marcadores radiactivos, los procedimientos de recuento actualmente

30 disponibles conocidos en la técnica pueden utilizarse para identificar y cuantificar la unión específica del anticuerpo anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus). En el caso de que el marcador sea una enzima, la detección puede realizarse mediante cualquiera de las técnicas colorimétricas, espectrofotométricas, fluoroespectrofotométricas, amperométricas o gasométricas actualmente

utilizadas, como se conoce en la técnica. Esto se puede lograr poniendo en contacto una muestra o una muestra de control con un anticuerpo anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) en condiciones que permitan la formación de un complejo entre el anticuerpo y CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus). Cualquier complejo formado entre el anticuerpo y CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) se detecta y compara en la muestra y el control. A la luz de la unión específica de los anticuerpos descritos en este documento para CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus), los anticuerpos pueden usarse para detectar específicamente la expresión de CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) en la superficie de células. Los anticuerpos descritos en el presente documento también pueden usarse para purificar CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) mediante purificación por inmutafinidad. También se incluye en este documento un sistema de ensayo que puede prepararse en forma de un kit de prueba, kit o kit de partes para el análisis cuantitativo del grado de presencia de, por ejemplo, CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus) o complejos CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus)/ligando de CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón, o cynomolgus). El sistema, kit de prueba, kit o kit de partes puede comprender un componente marcado, por ejemplo, un anticuerpo marcado y uno o más reactivos inmunoquímicos adicionales.

[00499] En ciertas realizaciones, los anticuerpos y las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden usarse o combinarse con uno o más de un agente quimioterapéutico, un agente anti-cáncer, un agente anti-angiogénico, un agente anti-fibrótico, un agente inmunoterapéutico, un anticuerpo terapéutico, un anticuerpo biespecífico y proteína terapéutica "similar a un anticuerpo" (como DARTs®, Duobodies®, Bites®, XmAbs®, TandAbs®, derivados de Fab), un conjugado anticuerpo-fármaco (ADC), un agente radioterapéutico, un agente antineoplásico, un agente antiproliferación, un virus oncolítico, un modificador o editor de genes (como CRISPR/Cas9, nucleasas con dedos de zinc o nucleasas sintéticas, TALEN), un agente inmunoterapéutico de células T con CAR (receptor de antígeno quimérico), un receptor de células T diseñado (TCR-T), o cualquier combinación de los mismos. Estos agentes terapéuticos pueden estar en forma de compuestos, anticuerpos, polipéptidos o polinucleótidos. En ciertas realizaciones, la aplicación proporciona un producto que comprende un compuesto descrito en este documento y un agente terapéutico adicional como una preparación combinada para uso simultáneo, separado o secuencial en terapia, p. un método para tratar una enfermedad, trastorno o afección que responde a la inhibición de CD73 y/o la inhibición de la señalización de TGFβ.

[00500] En ciertas realizaciones, los anticuerpos y las composiciones farmacéuticas descritas en este documento pueden usarse o combinarse con un inhibidor de DDR2 (por ejemplo, dasatinib), opcionalmente en combinación con un inhibidor de punto de control inmunológico (por ejemplo, un inhibidor de PD-1).

5 *Blancos*

[00501] En ciertas realizaciones, los anticuerpos y las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento se pueden usar o combinar con uno o más de los agentes terapéuticos adicionales. El uno o más agentes terapéuticos incluyen, pero no se limitan a, un inhibidor, agonista, antagonista, ligando, modulador, estimulador, bloqueador, activador o

10 supresor de un gen, ligando, receptor, proteína, factor tal como: homólogo 1 de oncogén del gen de la leucemia murina viral de Abelson (ABL, como ABL1), Acetil-CoA carboxilasa (tal como ACC1/2), activado CDC quinasa (ACK, tal como ACK1), Adenosina deaminasa, receptor de adenosina (tal como A2B, A2a, A3), Adenilato ciclase, ADP ribosil ciclase-1, receptor de la hormona adrenocorticotrófica (ACTH), Aerolisina, gen AKT1, Alk-5 proteína

15 quinasa, fosfatasa Alcalina, adrenoceptor Alfa 1, adrenoceptor Alfa 2, Alfa-cetoglutarato deshidrogenasa (KGDH), Aminopeptidasa N, proteína quinasa activada con AMP, quinasa de linfoma anaplásico (ALK, tal como ALK1), receptor de Andrógeno, Angiopoyetina (tal como ligando-1, ligando-2), gen Angiotensinógeno (AGT), proteína quinasa del homólogo 1 oncogén viral timoma murino (AKT) (tal como AKT1, AKT2, AKT3), gen de apolipoproteína

20 A-I (APOA1), Factor inductor de apoptosis, proteína apoptosis (tal como 1, 2), quinasa reguladora de la señal de apoptosis (ASK, tal como ASK1), Arginasa (I), Arginina deiminasa, Aromatasa, gen homólogo 1 Asteroide (ASTE1), serina/treonina proteína quinasa relacionada con ataxia telangiectasia y Rad 3 (ATR), Aurora quinasa proteína (tal como 1, 2), receptor tirosina quinasa Axl, gen baculoviral que contiene Repetición IAP 5 (BIRC5), Basigina, gen

25 de linfoma de células B 2 (BCL2), Componente 3 de unión a Bcl2, proteína Bcl2, gen BCL2L11, proteína y gen BCR (región de clúster de punto de interrupción), Beta adrenoceptor, Beta-catonina, antígeno CD19 de linfocito B, antígeno CD20 de linfocito B, molécula de adhesión celular linfocito B, ligando del estimulador de linfocito B, ligando de la proteína morfogenética ósea 10, modulador de ligando de la proteína morfogenética ósea 9, proteína

30 Brachyury, receptor Bradiquinina, proto-oncogen B-Raf (BRAF), tirosina quinasa Bcr-Abl, proteína que contiene Bromodominio y dominio externo (BET) (tal como BRD2, BRD3, BRD4), tirosina quinasa de Bruton (BTK), Calmodulina, proteína quinasa dependiente de calmodulina (CaMK, tal como CAMKII), Antígeno de cáncer de testículo 2, Antígeno de cáncer de testículo NY-ESO-1, antígeno cáncer/testículos 1B (CTAG1) gen, receptor

Cannabinoide (tal como CB1, CB2), anhidrasa Carbónica, caseína quinasa (CK, tal como CKI, CKII), Caspasa (tal como caspasa-3, caspasa-7, Caspasa-9), regulador tipo cisteína peptidasa relacionada a caspasa 8 de apoptosis CASP8-FADD, proteína de dominio de reclutamiento de Caspasa 15, Catepsina G, gen CCR5, quinasa que activa CDK- (CAK), quinasa de punto de control (tal como CHK1,CHK2), receptor de quimiocina (motivo C-C) (tal como CCR2, CCR4, CCR5, CCR8), receptor de quimiocina (motivo C-X-C) (tal como CXCR4, CXCR1 y CXCR2), ligando de Quimiocina CC21, receptor de Colecistoquinina CCK2, Gonadotropina coriónica, c-Kit (Kit tirosina-proteína quinasa o CD117), Claudina (tal como 6, 18), grupo de diferenciación (CD) tal como CD4, CD27, CD29, CD30, CD33, CD37, CD40, receptor del ligando CD40, ligando CD40, gen CD40LG, CD44, CD45, CD47, CD49b, CD51, CD52, CD55, CD58, CD66e, gen CD70, CD74, CD79, CD79b, gen CD79B, CD80, CD95, CD99, CD117, CD122, CDw123, CD134, CDw137, CD158a, CD158b1, CD158b2, CD223, antígeno CD276; gen de clusterina (CLU), Clusterina, c-Met (receptor del factor de crecimiento de hepatocitos (HGFR)), Complemento C3, factor de crecimiento del tejido conectivo, subunidad 5 del signalosoma COP9, CSF-1 (receptor del factor estimulador de colonias 1), gen CSF2, receptor de CTLA-4 (proteína linfocito T citotóxico 4), Ciclina D1, Ciclina G1, quinasas dependiente ciclina- (CDK, tal como CDK1, CDK1B, CDK2-9), ciclooxigenasa (tal como 1, 2), gen CYP2B1, Cisteína palmitoiltransferasa porcupina, Citocromo P450 11B2, Citocromo P450 17, citocromo P450 17A1, Citocromo P450 2D6, citocromo P450 3A4, Citocromo P450 reductasa, citoquina de señalización-1, citoquina de señalización-3, isocitrato deshidrogenasa Citoplásmica, Citosina deaminasa, citosina ADN metiltransferasa, proteína linfocito T citotóxico 4, gen DDR2, ligando de proteína tipo Delta (tal como 3, 4), Desoxiribonucleasa, ligando Dickkopf-1, dihidrofolato reductasa (DHFR), Dihidropirimidina deshidrogenasa, Dipeptidil peptidasa IV, receptor de dominio discoidina (DDR, tal como DDR1), proteína de unión a ADN (tal como HU-beta), proteína quinasa dependiente de ADN, ADN girasa, ADN metiltransferasa, ADN polimerasa (tal como alfa), ADN primasa, dUTP pirofosfatasa, L-dopacromo tautomerasa, proteína tip omicrotúbulo de equinodermo 4, receptor de tirosina quinasa EGFR, Elastasa, factor de Elongación 1 alfa 2, factor de Elongación 2, Endoglina, Endonucleasa, Endoplasmina, Endosialina, Endostatina, endotelina (tal como ET-A, ET-B), homólogo del Potenciador de zeste 2 (EZH2), Efrina (EPH) tirosina quinasa (tal como EphA3, Ephb4), ligando de Efrina B2, factor de crecimiento epidérmico, receptores del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), gen del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), Epigen, Molécula de adhesión de células epiteliales (EpCAM), receptor de tirosina quinasa Erb-b2 (homólogo 2 del oncógeno viral de leucemia eritroblástica aviar v-erb-b2),

receptor de tirosina quinasa Erb-b3, receptor de tirosina quinasa Erb-b4, E-selectina, Estradiol 17 beta deshidrogenasa, receptor de Estrógeno (tal como alfa, beta), receptor relacionado a Estrógeno, Gen del factor de iniciación de la traducción eucariota 5A (EIF5A), Exportina 1, quinasa relacionada con señal extracelular (tal como 1, 2), quinasas reguladas con señal extracelular (ERK), Factor (tal como Xa, VIIa), receptor farnesoide x (FXR), ligando Fas, Sintasa de ácidos grasos (FASN), Ferritina, ligando FGF-2, ligando FGF-5, factor de crecimiento de fibroblastos (FGF, tal como FGF1, FGF2, FGF4), fibronectina, tirosina quinasa relacionada con Fms 3 (Flt3), ligando de tirosina quinasa tipo Fms -3 (FLT3L), quinasa de adhesión focal (FAK, tal como FAK2), antígeno de membrana folato hidrolasa prostato específico 1 (FOLH1), receptor Folato (tal como alfa), Folato, transportador de Folato 1, FYN tirosina quinasa, enzima de escisión de aminoácidos básicos emparejados (FURIN), Beta-glucuronidasa, Galactosiltransferasa TNFR, Galectina-3, Gangliósido GD2, Glucocorticoide, receptor - proteína relacionada con GTR inducida por glucocorticoide, Glutamato carboxipeptidasa II, glutaminasa, Glutación S-transferasa P, glicógeno sintasa quinasa (GSK, tal como 3-beta), Glipicano 3 (GPC3), hormona liberadora de gonadotropina (GNRH), Receptor del factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), ligando del factor estimulante de colonias de granulocitos (GCSF), proteína unida al receptor del factor de crecimiento 2 (GRB2), proteína de unión a calcio Grp78 (proteína reguladora de glucosa de 78 kDa), gen de la Chaperona molecular groEL2, Hemo oxigenasa 1 (HO1), proteína de choque término (tal como 27, 70, 90 alfa, beta), gen de la proteína de choque término, Receptor de enterotoxina termoestable, proteína Hedgehog, Heparanasa, Factor de crecimiento de hepatocitos, proteína que asocia HERV-H LTR 2, Hexosa quinasa, receptor de Histamina H2, Histona metiltransferasa (DOT1L), histona deacetilasa (HDAC, tal como 1, 2, 3, 6, 10, 11), Histona H1, Histona H3, antígeno de HLA de clase I (A-2 alfa), antígeno de HLA de clase II, Proteína homeobox NANOG, gen HSPB1, antígeno leucocitario humano (HLA), proteína del virus del papiloma humano (tal como E6, E7), Ácido hialurónico, hialuronidasa, factor-1 alfa inducible por hipoxia (HIF1 α), gen de la transcripción impresa maternalmente expresada (H19), - proteína quinasa quinasa quinasa quinasa activada por mitógeno 1 (MAP4K1), tirosina-proteína quinasa HCK, I-Kappa-B quinasa (IKK, tal como IKKbe), IL-1 alfa, IL-1 beta, IL-12, gen IL-12, IL-15, IL-17, gen IL-2, subunidad alfa del receptor de IL-2, IL-2, receptor de IL-3, IL-4, IL-6, IL-7, IL-8, inmunoglobulina (tal como G, G1, G2, K, M), receptor de Inmunoglobulina Fc, receptor de Inmunoglobulina gamma Fc (tal como I, III, IIIA), indolamina 2,3-dioxigenasa (IDO, tal como IDO1), inhibidor de indolamina pirrol 2,3-dioxigenasa 1, receptor de insulina, Factor de crecimiento tipo insulina (tal como 1, 2),

Integrina alfa-4/beta-1, integrina alfa-4/beta-7, Integrina alfa-5/beta-1, Integrina alfa-V/beta-3, Integrina alfa-V/beta-5, Integrina alfa-V/beta-6, Molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1), interferón (tal como alfa, alfa 2, beta, gamma), proteína inducible por interferón ausente en el melanoma 2 (AIM2), receptor de interferón tipo I, ligando de Interleucina 1, receptor alfa 2 de Interleucina 13, ligando de interleucina 2, quinasa asociada a receptor de interleucina-1 4 (IRAK4), Interleucina-2, ligando de Interleucina-29, isocitrato deshidrogenasa (tal como IDH1, IDH2), Janus quinasa (JAK, tal como JAK1, JAK2), Jun N terminal quinasa, gen de la peptidasa relacionada con calicreína 3 (KLK3), Receptor tipo Ig de células asesinas, receptor de dominio de inserción de Quinasa (KDR), proteína tipo quinesina KIF11, Gen homólogo del oncogén viral del sarcoma de rata de Kirsten (KRAS), receptor Kisspeptin (KiSS-1), gen KIT, v-kit Hardy-Zuckerman 4 homólogo del oncogén viral del sarcoma felino (KIT) tirosina quinasa, lactoferrina, Lanosterol-14 demetilasa, proteína relacionada con receptor LDL 1, Leucotrieno A4 hidrolasa, Listeriolisina, L-Selectina, receptor hormona Luteinizante, Liasa, proteína del gen de activación de linfocito 3 (LAG-3), antígeno de Linfocito 75, receptor del antígeno de función del Linfocito -3, proteína tirosina quinasa específica de linfocito (LCK), Linfotactina, Lyn (Lck/Yes novel) tirosina quinasa, lisina demetilases (tal como KDM1, KDM2, KDM4, KDM5, KDM6, A/B/C/D), receptor Lisofosfatidato-1, Gen de la familia de proteínas de membrana asociada a lisosomas (LAMP), homólogo de Lisil oxidasa 2, proteína lisil oxidasa (LOX), proteína tipo lisil oxidasa (LOXL, tal como LOXL2), Progenitor quinasa hematopoyético 1 (HPK1), gen del receptor del factor de crecimiento de hepatocitos (MET), ligando del factor estimulante de colonias de macrófagos (MCSF), hecho inhibidor de la migración de macrófagos, gen MAGEC1, gen MAGEC2, Proteína principal de la bóveda, proteína quinasa activada por MAPK (tal como MK2), receptor acoplado a proteína G relacionado con Mas, metaloproteasa de matriz (MMP, tal como MMP2, MMP9), proteína de diferenciación Mcl-1, proteína de unión a p53 Mdm2, proteína Mdm4, antígeno de melanoma Melan-A (MART-1), proteína de Melanocito Pmel 17, ligando de hormona estimulante de melanocito, gen de la familia de antígenos de melanoma A3 (MAGEA3), antígeno a asociado melanoma (tal como 1, 2,3,6), membrana de cobre amina oxidasa, Mesotelina, MET tirosina quinasa, receptor de glutamato Metabotrópico 1, Metaloreductasa STEAP1 (seis antígeno epitelial transmembrana de la próstata 1), Metastina, metionina aminopeptidasa-2, Metiltransferasa, 3 cetoacil CoA tiolasa Mitocondrial, proteína quinasa que activa mitógeno (MAPK), - proteína quinasa activada por mitógeno (MEK, tal como MEK1, MEK2), mTOR (objetivo mecanicista de la rapamicina (serina/treonina quinasa), complejo mTOR (tal como 1,2), mucina (tal como 1, 5A, 16), homólogo mut T (MTH, tal como MTH1), proteína proto-

oncogen Myc, gen de la leucemia de células mieloides 1 (MCL 1), proteína sustrato de proteína
 quinasa C rica en alanina miristoilada (MARCKS), NAD ADP ribosiltransferasa, receptor de
 péptido natriurético C, molécula de adhesión de células neurales 1, receptor de neuroquinina 1
 (NK1), receptor de neuroquinina, neuropilina 2, proteína activadora de NF kappa B, Quinasa
 5 9 relacionada con NIMA (NEK9), óxido nítrico sintasa, receptor de células NK, receptor NK3,
 receptor NK activador NKG2 AB, transportador de noradrenalina, Notch (como receptor
 Notch-2, receptor Notch-3, receptor Notch-4), nuclear factor 2 relacionado con eritroide 2,
 factor nuclear (NF) kappa B, nucleolina, nucleofosmina, nucleofosmina-linfoma cinasa
 anaplásico (NPM-ALK), 2 oxoglutarato deshidrogenasa, 2,5-oligoadenilato sintetasa, O-
 metilguanina ADN metiltransferasa, receptor Opiode (tal como delta), Ornitina decarboxilasa,
 10 Orotato fosforibosiltransferasa, receptor de hormona nuclear huérfana NR4A1, osteocalcina,
 factor de diferenciación de osteoclastos, osteopontina, receptor OX-40 (miembro 4 de la
 superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral TNFRSF4 o CD134), proteína P3, p38
 quinasa, p38 MAP quinasa, proteína supresión tumoral p53, ligando de hormona Paratiroidea,
 15 Receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPAR, como alfa, delta, gamma), P-
 glicoproteína (como 1), homólogo de fosfatasa y tensina (PTEN), fosfatidilinositol 3-quinasa
 (PI3K), fosfoinositida-3 quinasa (PI3K tal como alfa, delta, gamma), fosforilasa quinasa (PK),
 gen PKN3, factor de crecimiento placentario, factor de crecimiento derivado de plaquetas
 (PDGF, tal como alfa, beta), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF, tal como alfa,
 20 beta), transportador pleiotrópico de resistencia a fármacos, Plexin B1, gen PLK1, quinasa tipo
 polo (PLK), quinasa tipo Polo 1, Poli ADP ribosa polimerasa (PARP, tal como PARP1, 2 y 3),
 Antígeno expresado preferentemente en el gen del melanoma (PRAME), proteína de unión a
 Prenil (PrPB), factor de transcripción probable PML, receptor de progesterona, muerte celular
 programada 1 (PD-1), inhibidor del ligando 1 de muerte celular programada (PD-L1), gen
 25 Prosaposina (PSAP), Receptor de prostanoides (EP4), antígeno prostático específico, fosfatasa
 de ácido prostático, proteasoma, Proteína E7, Proteína farnesiltransferasa, proteína quinasa
 (PK, tal como A, B, C), proteína tirosina quinasa, Proteína tirosina fosfatasa beta, Proto-
 oncogen serina/treonina-proteína quinasa (PIM, tal como PIM-1, PIM-2, PIM-3), P-Selectina,
 Purina nucleósido fosforilasa, canal iónico activado por ligando del receptor P2X purinérgico
 30 7 (P2X7), Piruvato deshidrogenasa (PDH), Piruvato deshidrogenasa quinasa, Piruvato quinasa
 (PYK), 5-Alfa-reductasa, proteína quinasa Raf (tal como 1, B), gen RAF1, gen Ras, Ras
 GTPasa, gen RET, receptor de tirosina quinasa Ret, proteína asociada a retinoblastoma,
 receptor de ácido retinoico (tal como gamma), receptor Retinoide X, Rheb (homólogo Ras
 enriquecido en cerebro) GTPasa, proteína quinasa asociada a Rho (homólogo Ras) 2,

ribonucleasa, Ribonucleótido reductasa (tal como subunidad M2), proteína S6 quinasa
 Ribosomal, ARN polimerasa (tal como I, II), tirosina quinasa Ron (Recepteur d'Origine
 Nantais), gen ROS1 (proto-oncogen ROS 1, receptor tirosina quinasa), Ros1 tirosina quinasa,
 Factor de transcripción 3 relacionado con Runt, gamma-secretasa, proteína de unión a calcio
 5 S100 A9, ATPasa de calcio endoplásmico sarco, segunda proteína activadora de caspasas
 derivada de mitocondrias (SMAC), proteína relacionada con frizzled secretada-2, semaforina-
 4D, Serina proteasa, serina/treonina quinasa (STK), serina/treonina-proteína quinasa (TBK, tal
 como TBK1), transducción y transcripción de señales (STAT, tal como STAT-1, STAT-3,
 STAT-5), Molécula de activación linfocítica de señalización (SLAM) miembro 7 de la familia,
 10 gen del antígeno epitelial de seis transmembranas de la próstata (STEAP), ligando de citocina
 SL, receptor suavizado (SMO), cotransportador de yoduro de sodio, cotransportador de fosfato
 de sodio 2B, receptor de somatostatina (tal como 1, 2, 3, 4, 5), proteína Sonic hedgehog, Son
 de sevenless (SOS), factor de transcripción de la proteína específica 1 (Sp1), esfingomielina
 sintasa, esfingosina quinasa (como 1, 2), receptor 1 de esfingosina-1-fosfato, tirosina quinasa
 15 del bazo (SYK), gen SRC, tirosina quinasa Src, gen STAT3, sulfatasa esteroide, receptor frl
 Estimulador de genes de interferón (STING), proteína estimuladora de genes de interferón,
 Ligando del factor 1 derivado de células estromales, SUMO (modificador pequeño similar a la
 ubiquitina), superóxido dismutasa, proteína Survivina, sinapsina 3, sindecán-1, sinucleína alfa,
 glucoproteína de superficie de células T CD28, quinasa de unión a tanque (TBK), caja TATA-
 20 factor de unión a proteína ARN polimerasa I subunidad B (TAF1B) gen, cadena zeta de
 glicoproteína CD3 de células T, antígeno de diferenciación de células T CD6, Inmunoglobulina
 de células T y dominio de mucina que contiene-3 (TIM-3), glucoproteína de superficie de
 células T CD8, proteína tirosina quinasa Tec, receptor de tirosina quinasa Tek, telomerasa, gen
 de transcriptasa reversa de Telomerasa (TERT), Tenascina, ligando de TGF beta 2, receptor de
 25 Trombopoyetina, Timidina quinasa, Timidina fosforilasa, Timidilato sintasa, Timosins (tal
 como alfa 1), receptor hormona Tiroidea, Receptor de hormona estimulante de la tiroides,
 factor tisular, ligando inductor de apoptosis relacionado con TNF, proteína de dominio de
 muerte asociada a TNFR1, receptor de ligando inductor de apoptosis relacionado con TNF
 (TRAIL), gen TNFSF11, gen TNFSF9, receptor tipo Toll (TLR tal como 1-13), topoisomerasa
 30 (tal como I, II, III), factor de Transcripción, Transferasa, Transferrina, Factor de crecimiento
 transformante (TGF, como beta) quinasa, receptor quinasa del factor de crecimiento
 transformante TGF- β , transglutaminasa, proteína asociada a la translocación, glucoproteína
 transmembrana NMB, transductor de señal de calcio Trop-2, gen de la glucoproteína
 trofoblasto (TPBG), glucoproteína trofoblasto, receptor de la tropomiosina receptor de quinasa

(Trk) (tal como TrkA, TrkB, TrkC), Triptófano 5-hidroxilasa, Tubulina, Factor de necrosis tumoral (TNF, tal como alfa, beta), receptor del factor de necrosis tumoral 13C, locus 2 de progresión tumoral (TPL2), gen de proteína Tumoral 53 (TP53), Gen candidato supresor de tumor 2 (TUSC2), neoantígenos específicos de tumor, Tirosinasa, Tirosina hidroxilasa, tirosina quinasa (TK), receptor de Tirosina quinasa, Tirosina quinasa con receptor de dominios similares a inmunoglobulina y EGF (TIE), inhibidor de tirosina proteína quinasa ABL1, ubiquitina, ubiquitina carboxil hidrolasa isoenzima L5, ubiquitina tioesterasa-14, enzima conjugadora de ubiquitina E2I (UBE2I, UBC9), Ureasa, Activador de plasminógeno de uroquinasa, Uteroglobina, Vanilloide VR1, Proteína de adhesión celular vascular 1, Receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR), Supresor de Ig de dominio V de activación de células T (VISTA), Receptor de VEGF-1, Receptor de VEGF-2, receptor de VEGF- 3, VEGF-A, VEGF-B, vimentina, receptor de vitamina D3, Proto-oncogen tirosina-proteína quinasa Mer, Yes, Wee-1 proteína quinasa, Antígeno 1 del tumor de Wilms, proteína del tumor de Wilms, inhibidor de la proteína de apoptosis ligado al cromosoma X, factor de transcripción de la proteína del dedo de zinc o cualquier combinación de los mismos.

Mecanismo de acción

[00502] Los anticuerpos y las composiciones farmacéuticas descritos en este documento pueden usarse o combinarse con uno o más de los agentes terapéuticos adicionales. Los agentes terapéuticos pueden clasificarse por su mecanismo de acción en, por ejemplo, los siguientes grupos:

- agentes antimetabolitos/anticancerígenos, tales como análogos de pirimidina floxuridina, capecitabina, citarabina, CPX-351 (citarabina liposomal, daunorrubicina) y TAS-118;
- análogos de purina, antagonistas de folato (como pralatrexato) e inhibidores relacionados;
- agentes antiproliferativos/antimitóticos que incluyen productos naturales, tales como alcaloides de la vinca (vinblastina, vincristina) y disruptores de microtúbulos tales como taxano (paclitaxel, docetaxel), vinblastina, nocodazol, epotilonas, vinorelbina (NAVELBINE®) y epipodofilotoxinas (epipodofilotoxinas);
- Agentes que dañan el ADN, como actinomicina, amsacrina, busulfán, carboplatino, clorambucilo, cisplatino, ciclofosfamida (CYTOXAN®), dactinomicina, daunorrubicina, doxorubicina, epirubicina, iposfamida, melfalán, mercloreteamina, mitoxoureomicina, taxonomicina, tenipósido, etopósido y trietilentiofosforamida;
- Agentes hipometilantes de ADN, tales como guadecitabina (SGI-110), ASTX727;

- antibióticos como dactinomicina, daunorrubicina, doxorubicina, idarrubicina, antraciclinas, mitoxantrona, bleomicinas, plicamicina (mitramicina);
- enzimas como la L-asparaginasa que metaboliza sistémicamente la L-asparagina y priva a las células que no tienen la capacidad de sintetizar su propia asparagina;
- 5 - agentes antiplaquetarios;
- oligonucleótidos de ADN que se dirigen a Bcl-2, como PNT2258;
- agentes que activan o reactivan el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) latente, como el panobinostat y la romidepsina;
- estimuladores de asparaginasa, tales como crisantaspasa (Erwinase®) y GRASPA (ERY-001, ERY-ASP), calaspargasa pegol;
- 10 - inhibidores de pan-Trk, ROS1 y ALK, como entrectinib, TPX-0005;
- inhibidores de la quinasa del linfoma anaplásico (ALK), como alectinib, ceritinib;
- agentes alquilantes antiproliferativos/antimitóticos, tales como ciclofosfamida de mostaza nitrogenada y análogos (melfalán, clorambucil, hexametilmelamina, tiotepa), alquilnitrosoureas (carmustina) y análogos, estreptozocina y triazenos (dacarbazina);
- 15 - antimetabolitos antiproliferativos/antimitóticos, como análogos del ácido fólico (metotrexato);
- complejos de coordinación de platino (cisplatino, oxiloplatinim y carboplatino), procarbazona, hidroxiurea, mitotano y aminoglutetimida;
- 20 - hormonas, análogos de hormonas (estrógeno, tamoxifeno, goserelina, bicalutamida y nilutamida) e inhibidores de aromatasa (letrozol y anastrozol);
- anticoagulantes como heparina, sales de heparina sintética y otros inhibidores de trombina;
- agentes fibrinolíticos tales como activador de plasminógeno tisular, estreptoquinasa, uroquinasa, aspirina, dipiridamol, ticlopidina y clopidogrel;
- 25 - agentes antimigratorios;
- agentes antisecretorios (brefeldin);
- inmunosupresores, como tacrolimus, sirolimus, azatioprina y micofenolato;

- inhibidores del factor de crecimiento e inhibidores del factor de crecimiento endotelial vascular;
- inhibidores del factor de crecimiento de fibroblastos, como FPA14;
- anticuerpos anti-VEGFR, como IMC-3C5, GNR-011, tanibirumab;
- 5 - anticuerpos anti-VEGF/DDL4, como ABT-165;
- anticuerpos anti-cadherinas, como HKT-288;
- anticuerpos anti-CD70, como AMG-172; repetición rica en antileucina que contiene 15 anticuerpos (LRRC15), como ABBV-085. ARGX-110;
- bloqueadores de los receptores de angiotensina, donores de óxido nítrico;
- 10 - oligonucleótidos antisentido, tales como AEG35156, IONIS-KRAS-2.5Rx, EZN-3042, RX-0201, IONIS-AR-2.5Rx, BP-100 (prexigebersen), IONIS-STAT3-2.5Rx;
- oligonucleótidos de interferencia de ADN, como PNT2258, AZD-9150;
- anticuerpos anti-ANG-2, tales como MEDI3617 y LY3127804;
- anticuerpos anti-ANG-1/ANG-2, como AMG-780;
- 15 - anticuerpos anti-MET/EGFR, como LY3164530;
- anticuerpos anti-EGFR, tales como ABT-414, AMG-595, necitumumab, ABBV-221, depatuxizumab mafodotin (ABT-414), tomuzotuximab, ABT-806, vectibix, modotuximab, RM-1929;
- anticuerpos anti-CSF1R, tales como emactuzumab, LY3022855, AMG-820, FPA-008
- 20 (cabiralizumab);
- anticuerpos anti-CD40, tales como RG7876, SEA-CD40, APX-005M, ABBV-428;
- anticuerpos anti-endoglina, tal como TRC105 (carotuximab);
- anticuerpos anti-CD45, tal como 131I-BC8 (lomab-B);
- anticuerpos anti-HER3, tal como LJM716, GSK2849330;
- 25 - anticuerpos anti-HER2, tales como margetuximab, MEDI4276, BAT-8001;
- anticuerpos anti-HLA-DR, tal como IMMU-114;
- anticuerpos anti-IL-3, tal como JNJ-56022473;

- anticuerpos anti-OX40, tales como MEDI6469, MEDI6383, MEDI0562 (tavolixizumab), MOXR0916, PF-04518600, RG-7888, GSK-3174998, BMS-986178, GBR-8383, ABBV-368;
- anticuerpos anti-EphA3, tal como KB-004;
- 5 - anticuerpos anti-CD20, tales como obinutuzumab, IGN-002;
- anticuerpos anti-CD20/CD3, tal como RG7828;
- anticuerpos anti-CD37, tales como AGS67E, otlertuzumab (TRU-016);
- anticuerpos anti-ENPP3, tal como AGS-16C3F;
- anticuerpos anti-FGFR-3, tales como LY3076226, B-701;
- 10 - anticuerpos anti-FGFR-2, tal como GAL-F2;
- anticuerpos anti-C5, tal como ALXN-1210;
- anticuerpos anti-CD27, tal como varlilumab (CDX-1127);
- anticuerpos anti-TROP-2, tal como IMMU-132
- anticuerpos anti-NKG2a, tal como monalizumab;
- 15 - anticuerpos anti-VISTA, tal como HMBD-002;
- anticuerpos anti-PVRIG, tal como COM-701;
- anticuerpos anti-EpCAM, tal como VB4-845;
- anticuerpos anti-BCMA, tal como GSK-2857916
- anticuerpos anti-CEA, tal como RG-7813;
- 20 - anticuerpos anti- grupo de diferenciación 3 (CD3), tal como MGD015;
- anticuerpos anti- receptor de folato alfa, tal como IMG853;
- inhibidores de epha2, tal como MM-310;
- anticuerpos anti LAG-3, tales como relatlimab (ONO-4482), LAG-525, MK-4280, REGN-3767;
- 25 - inhibidores de raf quinasa/VEGFR, tal como RAF-265;
- inhibidores de proteína polycomb (EED), tal como MAK683;
- anticuerpos anti-proteína de activación de fibroblasto (FAP)/IL-2R, tal como RG7461;

- anticuerpos anti-proteína de activación de fibroblasto (FAP)/TRAIL-R2, tal como RG7386;
- anticuerpos anti-fucosil-GM1, tal como BMS-986012;
- inhibidores de p38 MAP quinasa, tal como ralimetinib;
- 5 - inhibidores de PRMT1, tal como MS203;
- inhibidores de esfingosina quinasa 2 (SK2), tal como opaganib;
- inhibidores de FLT3-ITD, tal como BCI-332;
- inhibidores de FLT3-ITD/Mer tirosina quinasa, tal como MRX-2843;
- estimuladores de Factor 2 relacionado con el eritroide 2 nuclear, tal como omaveloxolona
- 10 (RTA-408);
- inhibidores de Receptor de tropomiosina quinasa (TRK), tales como LOXO-195, ONO-7579;
- anticuerpos anti-ICOS, tales como JTX-2011, GSK3359609;
- anticuerpos anti-DR5 (TRAIL2), tal como DS-8273;
- 15 - anticuerpos anti-GD2, tal como APN-301;
- anticuerpos anti-interleucina-17 (IL-17), tal como CJM-112;
- anticuerpos anti- anhidrasa carbónica IX, tal como TX-250;
- anti-CD38-attenukine, tal como TAK573;
- anticuerpos anti-Mucina 1, tal como gatipotuzumab;
- 20 - anticuerpos anti-FTL3, tales como Flysyn, ASP-1235;
- anticuerpos anti-FLT3/CD3 BiTE, tal como AMG-427;
- inhibidores de Mucina 1, tal como GO-203-2C;
- inhibidores de proteína MARCKS, tal como BIO-11006;
- antagonistas de Folato, tal como arfolitixorin;
- 25 - inhibidores de Galectina-3, tal como GR-MD-02;
- inhibidores de P68 fosforolado, tal como RX-5902;
- moduladores de CD95/TNF, tal como ofranergene obadenovec;

- inhibidores de PI3K/Akt/mTOR, tal como ABTL-0812;
- inhibidores de pan-PIM quinasa, tal como INCB-053914;
- inhibidores de PIM/FLT3 quinasa, tal como MEN-1703 (SEL-24);
- estimuladores del gen IL-12, tales como EGEN-001, tavokinogene telseplasmid;
- 5 - inhibidores de la proteína de choque térmico HSP90, tales como TAS-116, PEN-866;
- antagonistas de VEGF/HGF, tal como MP-0250;
- inhibidores de tirosina quinasa SYK/tirosina quinasa FLT3, tal como TAK-659 (mivavotinib);
- inhibidores de tirosina quinasa SYK/tirosina quinasa JAK, tal como ASN-002;
- 10 - inhibidores de JAK3/JAK1/TBK1 quinasa, tal como CS-12912;
- FLT3 tirosina quinasas, tales como FF-10101, HM-43239, SKI-G-801;
- ligando de tirosina quinasa tipo FMS 3 (FLT3L), tal como CDX-301;
- inhibidores de EGFR/FLT3/ABL tirosina quinasa, tal como SKLB-1028;
- inhibidores de FLT3/MEK1, tal como E-6201;
- 15 - antagonista de IL-24, tal como AD-IL24;
- agonistas de RIG-I, tal como RGT-100;
- estimuladores de Aerolisina, tal como topsalisina;
- inhibidores de P-Glicoproteína 1, tal como HM-30181A;
- antagonistas de CSF-1, tales como ARRY-382, BLZ-945;
- 20 - inhibidores de CCR8, tales como I-309, SB-649701, HG-1013, RAP-310;
- anticuerpos anti-Mesotelina, tal como SEL-403;
- estimuladores de Timidina quinasa, tal como aglatimagene besadenovec;
- inhibidores de quinasa tipo Polo 1, tal como PCM-075;
- agonistas de TLR-7, tal como TMX-101 (imiquimod);
- 25 - inhibidores de NEDD8, tal como pevonedistat (MLN-4924), TAS-4464; moduladores de la vía pleiotrópica, tal como avadomida (CC-122);
- inhibidores de FoxM1, tal como thioistrepton;

- anticuerpos Anti-MUC1, tal como Mab-AR-20.5;
- anticuerpos anti-CD38, tales como isatuximab, MOR-202;
- inhibidores de UBA1, tal como TAK-243;
- inhibidores de tirosina quinasa Src, tal como VAL-201;
- 5 - inhibidores de VDAC/HK, tal como VDA-1102;
- inhibidores de BRAF/PI3K, tal como ASN-003;
- inhibidores de Elf4a, tal como rohinitib, eFT226;
- estimuladores del gen TP53, tal como ad-p53;
- inhibidores de PD-L1/EGFR, tal como GNS-1480 (lazertinib);
- 10 - inhibidores de PD-1/CTLA-4, tal como PF-06936308;
- inhibidores de Receptor alfa del ácido retinoico (RAR α), tal como SY-1425;
- inhibidores de SIRT3, tal como YC8-02;
- inhibidores de Ligando del factor 1 derivado de células estromales, tal como olaptosed pegol (NOX-A12);
- 15 - moduladores de receptor de IL-4, tal como MDNA-55;
- estimuladores de Arginasa-I, tal como pegzilarginase;
- Inhibidor de la topoisomerasa I/inhibidores de factor-1 alfa inducible por hipoxia, tal como PEG-SN38 (firtecan pegol);
- inhibidores de Factor-1 alfa inducible por hipoxia, tales como PT-2977, PT-2385;
- 20 - agonistas de CD122 tal como NKTR-214;
- estimuladores de la proteína supresora de tumores p53 tal como kevetrin;
- inhibidores de p53 proteína supresora de tumores Mdm4/Mdm2 proteína de unión a p53, tal como ALRN-6924;
- inhibidores de proteína del huso de kinesina (KSP), tal como filanesib (ARRY-520);
- 25 - inhibidores de Proteína de fusión CD80-fc, tal como FPT-155;
- Inhibidores de la leucemia menínica y de linaje mixto (MLL) tal como KO-539;
- agonistas de Receptor x del hígado, tal como RGX-104;

- agonistas de IL-10, tal como AM-0010;
 - inhibidores de EGFR/ErbB-2, tal como varlitinib;
 - inhibidores de VEGFR/PDGFR, tal como vorolanib;
 - inhibidores de IRAK4, tal como CA-4948;
- 5
- anticuerpos anti-TLR-2, tal como OPN-305;
 - moduladores de Calmodulina, tal como CBP-501;
 - antagonistas de receptor Glucocorticoide, tal como relacorilant (CORT-125134);
 - inhibidores de Segunda proteína activadora de caspasas (SMAC) derivada de mitocondrias, tal como BI-891065;
- 10
- moduladores de Lactoferrina, tal como LTX-315;
 - antagonistas Kit tirosina quinasa/receptor alfa PDGF tal como DCC-2618;
 - inhibidores de KIT, tal como PLX-9486;
 - inhibidores de Exportina 1, tal como eltanexor;
 - inhibidores de EGFR/ErbB2/Ephb4, tal como tesevatinib;
- 15
- anticuerpos anti-CD33, tal como IMGN-779;
 - anticuerpos anti-KMA, tal como MDX-1097;
 - anticuerpos anti-TIM-3, tales como TSR-022, LY-3321367, MBG-453;
 - anticuerpos anti-CD55, tal como PAT-SC1;
 - anticuerpos anti-PSMA, tal como ATL-101;
- 20
- anticuerpos anti-CD100, tal como VX-15;
 - anticuerpos anti-EPHA3, tal como fibatuzumab;
 - anticuerpos anti-ErbB, tales como CDX-3379, HLX-02, seribantumab;
 - anticuerpos anti-APRIL, tal como BION-1301;
 - anticuerpos Anti-Tigit, tales como BMS-986207, RG-6058;
- 25
- inhibidores de gen CHST15, tal como STNM-01;
 - inhibidores de RAS, tal como NEO-100;
 - Antagonista del receptor de somatostatina, tal como OPS-201;

- estimuladores de gen CEBPA, tal como MTL-501;
- moduladores de gen DKK3, tal como MTG-201;
- inhibidores de p70s6k, tal como MSC2363318A;
- inhibidores de metionina aminopeptidasa 2 (MetAP2), tales como M8891, APL-1202;
- 5 - inhibidores de arginina N-metiltransferasa 5, tal como GSK-3326595;
- anticuerpos proteína anti-muerte celular programada 1 (anti-PD-1), tales como nivolumab (OPDIVO®, BMS-936558, MDX-1106), pembrolizumab (KEYTRUDA®, MK-3477, SCH-900475, lambrolizumab, CAS Reg. No. 1374853-91-4), pidilizumab, PF-06801591, BGB-A317 (tislelizumab), GLS-010 (WBP-3055), AK-103 (HX-008), CS-1003, HLX-10, MGA-012, BI-754091, REGN-2810 (cemiplimab), JS-001 (toripalimab), JNJ-63723283, genolimzumab (CBT-501), LZM-009, BCD-100, LY-3300054, SHR-1201, SHR-1210 (camrelizumab), Sym-021, ABBV-181, AK-105, PD1-PIK, BAT-1306, y anticuerpos anti-ligando de muerte programada 1 (anti-PD-L1) tales como BMS-936559, atezolizumab (MPDL3280A), durvalumab (MEDI-4736), avelumab, CK-301, (MSB0010718C), MEDI-0680, CX-072, CBT-502, PDR-001 (spartalizumab), TSR-042 (dostarlimab), MSB-2311, JTX-4014, BGB-A333, SHR-1316, CS-1001 (WBP-3155, KN-035, IBI-308 (sintilimab), HLX-20, KL-A167, STI-A1014, STI-A1015 (IMC-001), BCD-135, FAZ-053, y MDX1105-01;
- 15 - antagonistas de PD-L1/VISTA tal como CA-170;
- 20 - inhibidores de PD-1/PD-L1, tal como GS-4416, INCB086550, GS-4224;
- anticuerpos anti-PD-L1/TGFβ, tal como M-7824;
- anticuerpos anti-transferrina, tal como CX-2029;
- anticuerpos anti-IL-8 (Interleucina-8), tal como HuMax-Inflam;
- inhibidores de ATM (ataxia telangiectasia), tal como AZD0156;
- 25 - inhibidores de CHK1, tales como GDC-0575, LY2606368 (prexasertib), SRA737, RG7741 (CHK1/2),;
- antagonistas de CXCR4, tales como BL-8040, LY2510924, burixafor (TG-0054), X4P-002, X4P-001-IO;
- inhibidores de EXH2, tal como GSK2816126; inhibidores de HER2, tales como neratinib, tucatinib (ONT-380);
- 30

- inhibidores de KDM1, tales como ORY-1001, IMG-7289, INCB-59872, GSK-2879552;
- antagonistas de CXCR2, tal como AZD-5069;
- anticuerpos GM-CSF, tal como lenzilumab;
- inhibidores de Proteína quinasa dependiente de ADN, tales como MSC2490484A
- 5 (nedisertib), VX-984, AsiDNA (DT-01);
- inhibidores de proteína quinasa C (PKC), tales como LXS-196, sotrastaurin;
- Reguladores a la baja selectivos del receptor de estrógeno (SERD), tales como fulvestrant (Faslodex®), RG6046, RG6047, elacestrant (RAD-1901) y AZD9496;
- Antagonistas covalentes selectivos del receptor de estrógenos (SERCA), tales como H3B-
- 10 6545;
- modulador selectivo del receptor de andrógenos (SARM), como GTX-024, darolutamida;
- antagonistas de la quinasa del factor de crecimiento transformante beta (TGF-beta), tales como galunisertib;
- anticuerpos anti-factor de crecimiento transformante beta (TGF-beta), tales como
- 15 LY3022859, NIS793, XOMA 089;
- anticuerpos biespecíficos, tales como MM-141 (IGF-1/ErbB3), MM-111 (Erb2/Erb3), JNJ-64052781 (CD19/CD3), PRS-343 (CD-137/HER2), AFM26 (BCMA/CD16A), JNJ-61186372 (EGFR/cMET), AMG-211 (CEA/CD3), RG7802 (CEA/CD3), ERY-974 (CD3/GPC3) vancizumab (angiopoietins/VEGF), PF-06671008 (Cadherins/CD3), AFM-
- 20 13 (CD16/CD30), APVO436 (CD123/CD3), flotetuzumab (CD123/CD3), REGN-1979 (CD20/CD3), MCLA-117 (CD3/CLEC12A), MCLA-128 (HER2/HER3), JNJ-0819, JNJ-7564 (CD3/heme), AMG-757 (DLL3-CD3), MGD-013 (PD-1/LAG-3), FS-118 (LAG-3/PD-L1) MGD-019 (PD-1/CTLA-4), KN-046 (PD-1/CTLA-4), MEDI-5752 (CTLA-4/PD-1), RO-7121661 (PD-1/TIM-3), XmAb-20717 (PD-1/CTLA-4), AK-104 (CTLA-
- 25 4/PD-1), AMG-330 (CD33/CD3), AMG-420 (BCMA/CD3), BI-836880 (VEFG/ANG2), JNJ-63709178 (CD123/CD3), MGD-007 (CD3/gpA33), y MGD-009 (CD3/B7H3);
- Inhibidores selectivos de EGFR mutantes, tales como PF-06747775, EGF816 (nazartinib), ASP8273, ACEA-0010, BI-1482694;
- Anticuerpos anti-GITR (proteína relacionada con el receptor del factor de necrosis tumoral inducida por glucocorticoides), tales como MEDI1873, FPA-154, TRX-518,
- 30 BMS-986156, MK-1248, GWN-323;

- anticuerpos anti-ligando 3 de proteína de tipo delta (DDL3), como rovalpituzumab tesirina;
- anticuerpos anti-clusterina, tal como AB-16B5;
- anticuerpos anti-Efrina-A4 (EFNA4), tal como PF-06647263;
- 5 - anticuerpos anti-RANKL, tal como denosumab;
- anticuerpos anti- mesotelina, tales como BMS-986148, Anti-MSLN-MMAE;
- anticuerpos anti- cotransportador de fosfato de sodio 2B (NaP2B), tal como lifastuzumab
- anticuerpos anti-c-Met, tal como ABBV-399;
- antagonistas de receptor de Adenosina A2A, tales como CPI-444, AZD-4635,
- 10 preladenant, PBF-509;
- inhibidores de Alfa-cetoglutarato deshidrogenasa (KGDH), tal como CPI-613;
- inhibidores de XPO1, tal como selinexor (KPT-330);
- inhibidores de Isocitrato deshidrogenasa 2 (IDH2), tal como enasidenib (AG-221);
- inhibidores de IDH1 tales como AG-120, y AG-881 (IDH1 y IDH2), IDH-305, BAY-
- 15 1436032;
- moduladores de receptor de interleucina-3 (IL-3R), tal como SL-401;
- estimuladores de Arginina deiminasa, tal como pegargiminasa (ADI-PEG-20);
- conjugados anticuerpo-fármaco, tales como MLN0264 (anti-GCC, guanilil ciclase C), T-
- DM1 (trastuzumab emtansine, Kadcycla), milatuzumab-doxorrubicina (hCD74-DOX),
- 20 brentuximab vedotin, DCDT2980S, polatuzumab vedotin, SG, CD70 -CD19A,
- inotuzumab ozogamicina, lorvotuzumab mertansina, SAR3419, isactuzumab govitecan,
- enfortumab vedotin (ASG-22ME), ASG-15ME, DS-8201 ((trastuzumab deruxtecan),
- 225Ac-lintumab deruxtecan, 225Ac-lintumabulumab, t3-1 tetraxtecan-U3-1 vedotin,
- anetumab ravtansine, CX-2009, SAR-566658, W-0101, polatuzumab vedotin, ABBV-
- 25 085;
- inhibidores de claudina-18, tal como claudiximab;
- inhibidores de β -catenina, tal como CWP-291;
- anticuerpos anti-CD73, tales como MEDI-9447 (oleclumab), CPX-006, IPH-53, BMS-
- 986179, NZV-930;

- inhibidores de CD73, tales como AB-680, PSB-12379, PSB-12441, PSB-12425, CB-708;
- inhibidores de CD39/CD73, tal como PBF-1662;
- inhibidores de receptor de quimiocinas 2 (CCR), tales como PF-04136309, CCX-872, BMS-813160 (CCR2/CCR5)
- 5 - inhibidores de timidilato sintasa, tal como ONX-0801;
- inhibidores de ALK/ROS1, tal como lorlatinib;
- inhibidores de tanquirasa, tal como G007-LK;
- inhibidores de Proteína de unión a p53 mdm2, tales como CMG-097, HDM-201;
- inhibidores de c-PIM, tal como PIM447;
- 10 - inhibidores de BRAF, tales como dabrafenib, vemurafenib, encorafenib (LGX818), PLX8394;
- inhibidores de esfingosina quinasa-2 (SK2), tales como Yeliva® (ABC294640);
- inhibidores de ciclo celular, tales como selumetinib (MEK1/2), y sapacitabine;
- inhibidores de AKT tales como MK-2206, ipatasertib, afuresertib, AZD5363, y ARQ-092, capivasertib, triciribine;
- 15 - inhibidores de anti-CTLA-4 (proteína 4 de linfocitos T citotóxicos), tales como tremelimumab, BMS-986218;
- inhibidores de c-MET, tales como AMG-337, savolitinib, tivantinib (ARQ-197), capmatinib, y tepotinib, ABT-700, AG213, AMG-208, JNJ-38877618 (OMO-1), merestinib, HQP-8361;
- 20 - inhibidores de c-Met/VEGFR, tales como BMS-817378, TAS-115;
- inhibidores de c-Met/RON, tal como BMS-777607;
- inhibidores de c-Met/VEGF2/AXL/RON/Mer/FLT3, tal como CT-053 (ningetinib);
- inhibidores de c-Kit/VEGFR2/PDGFR/VEGFR3/FLT1/FLT3, tales como SHR-1020 (famitinib L-malate);
- 25 - inhibidores de BRAF/EGFR, tal como BGB-283;
- inhibidores de bcr/abl, tales como rebastinib, asciminib;
- inhibidores de MNK1/MNK2, tal como eFT-508;

- estimuladores de Inhibidor de mTOR/citocromo P450 3A4, tal como TYME-88
- inhibidores de desmetilasa-1 específica de lisina (LSD1), tal como CC-90011;
- inhibidores de Pan-RAF, tales como LY3009120, LXH254, TAK-580;
- inhibidores de Raf/MEK, tal como RG7304;
- 5 - inhibidores de CSF1R/KIT y FLT3, tal como pexidartinib (PLX3397);
- inhibidores de quinasa, tal como vandetanib;
- antagonistas de E selectina, tal como GMI-1271;
- inductores de diferenciación, tal como tretinoin;
- inhibidores de receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), tales como
- 10 osimertinib (AZD-9291);
- inhibidores de topoisomerasa, tales como doxorubicina, daunorrubicina, dactinomicina, enipósido, epirubicina, etopósido, idarrubicina, irinotecán, mitoxantrona, pixantrona, sobuzoxano, topotecán, irinotecán, MM-398 (irinotecán liposómico), vosaroxina y GPXin-150, AR 2818, avitinib (ACEA-0010), irofulven (MGI-114);
- 15 - corticosteroides, tales como cortisona, dexametasona, hidrocortisona, metilprednisolona, prednisona, prednisolona;
- inhibidores de quinasa de la transducción de señales del factor de crecimiento;
- análogos de nucleósidos, tal como DFP-10917;
- inhibidores de Axl, tales como BGB-324 (bemcentinib), SLC-0211;
- 20 - inhibidores de BET, tales como INCB-054329, INCB057643, TEN-010, AZD-5153, ABT-767, BMS-986158, CC-90010, GSK525762 (molibresib), NHWD-870, ODM-207, GSK-2820151, GSK-1210151A, ZBC246, ZBC260, ZEN3694, FT-1101, RG-6146, CC-90010, mivebresib, BI-894999, PLX-2853, PLX-51107, CPI-0610, GS-5829;
- inhibidores de PARP, tales como olaparib, rucaparib, veliparib, talazoparib, ABT-767,
- 25 BGB-290;
- inhibidores de Proteasoma, tales como ixazomib, carfilzomib (Kyprolis®), marizomib;
- inhibidores de Glutaminasa, tal como CB-839;
- vacunas, tales como vacuna peptídica TG-01 (RAS), GALE-301, GALE-302, nelipepimut-s, SurVaxM, DSP-7888, TPIV-200, PVX-410, VXL-100, DPX-E7, ISA-101,

- 6MHP, OSE -2101, galinpepimut-S, SVN53-67/M57-KLH, IMU-131; vacunas de vectores bacterianos tales como CRS-207/GVAX, axalimogene filolisbac (ADXS11-001); vacunas de vectores de adenovirus tales como nadofaragene firadenovec; vacuna autóloga Gp96; vacunas de células dendríticas, tales como CVactm, stapuldencel-T, eltrapuldencel-T, SL-701, BSK01TM, rocapuldencel-T (AGS-003), DCVAC, CVactm, stapuldencel-T, eltrapuldencel-T, SL-701, BSK01TM, ADXS31 -142; vacunas oncolíticas tales como, talimogén laherparepvec, pexastimogén devacirepvec, GL-ONC1, MG1-MA3, parvovirus H-1, ProstAtak, enadenotucirev, MG1MA3, ASN-002 (TG-1042); vacunas terapéuticas, tales como CVAC-301, CMP-001, PF-06753512, VBI-1901, TG-4010, Proscavax™; vacunas de células tumorales, tales como Vigil® (IND-14205), vacuna Oncoquest-L; vacuna de poliovirus de serotipo 1 recombinante vivo atenuado, tales como PVS-RIPO; Adagloxad simolenin; MEDI-0457; DPV-001 una vacuna contra el cáncer enriquecida con autofagosoma, derivada de tumores; Vacunas de ARN tales como, CV-9209, LV-305; Vacunas de ADN, tales como MEDI-0457, MVI-816, INO-5401; Vacuna modificada contra el virus de la vacuna Ankara que expresa p53, tales como MVA-p53; DPX-Survivac; BriaVax™; GI-6301; GI-6207; GI-4000;
- anticuerpos anti-DLL4 (ligando 4 similar a delta), tales como demcizumab;
 - Inhibidores de STAT-3, como napabucasina (BBI-608);
 - Inhibidores de ATPasa p97, tales como CB-5083;
 - inhibidores del receptor suavizado (SMO), como Odomzo® (sonidegib, anteriormente LDE-225), LEQ506, vismodegib (GDC-0449), BMS-833923, glasdegib (PF-04449913), LY2940680 e itraconazol;
 - moduladores de interferón alfa ligando, tales como interferón alfa-2b, interferón alfa-2a biosimilar (Biogenomics), ropeginterferón alfa-2b (AOP-2014, P-1101, PEG IFN alfa-2b), Multiferon (Alfanative, Viragen), interferón alfa 1b, Roferon-A (Canferon, Ro-25-3036), biológico de continuación de interferón alfa-2a (Biosidus) (Inmutag, Inter 2A), biológico de continuación de interferón alfa-2b (Biosidus - Bioferon, Citopheron, Ganapar, Beijing Kawin Technology - Kaferon), Alfaferona, interferón alfa-1b pegilado, biológico de continuación de peginterferón alfa-2b (Amega), interferón alfa-1b humano recombinante, interferón alfa-2a humano recombinante, interferón alfa-2b humano recombinante, veltuzumab -Conjugado IFN alfa 2b, Dynavax (SD-101) e interferón alfa-n1 (Humoferon, SM-10500, Sumiferon);

- moduladores de ligando de interferón gamma, tales como interferón gamma (OH-6000, Ogamma 100);
- moduladores de receptor de IL-6, tales como tocilizumab, siltuximab, AS-101 (CB-06-02, IVX-Q-101);
- 5 - moduladores de Telomerasa, tales como, tertomotide (GV-1001, HR-2802, Riavax) y imetelstat (GRN-163, JNJ-63935937);
- inhibidores de ADN metiltransferasas, tales como temozolomide (CCRG-81045), decitabine, guadecitabine (S-110, SGI-110), KRX-0402, RX-3117, RRx-001, y azacitidine;
- 10 - inhibidores de ADN girasa, tales como pixantrone y sobuzoxane;
- inhibidores de Proteína de la familia Bcl-2, tales como ABT-263, venetoclax (ABT-199), ABT-737, y AT-101;
- inhibidores de Notch, tales como LY3039478 (crenigacestat), tarextumab (anti-Notch2/3), BMS-906024;
- 15 - inhibidores de anti-miostatina, tal como landogrozumab;
- estimuladores de hialuronidasa, tal como PEGPH-20;
- inhibidores de la vía Wnt, tales como SM-04755, PRI-724, WNT-974;
- inhibidores de gamma-secretasa, tales como PF-03084014, MK-0752, RO-4929097;
- inhibidores de Grb-2 (proteína-2 unida al receptor del factor de crecimiento), tales como BP1001;
- 20 - Compuestos inductores de la ruta TRAIL, tales como ONC201, ABBV-621;
- inhibidores de quinasa de adhesión Focal, tales como VS-4718, defactinib, GSK2256098;
- inhibidores de hedgehog, tales como saridegib, sonidegib (LDE225), glasdegib y vismodegib;
- 25 - inhibidores de Aurora quinasa, tales como alisertib (MLN-8237), y AZD-2811, AMG-900, barasertib, ENMD-2076;
- Moduladores HSPB1 (proteína de choque térmico 27, HSP27), tales como brivudine, apatorsen;

- inhibidores de ATR, tales como BAY-937, AZD6738, AZD6783, VX-803, VX-970 (berzosertib) y VX-970;
- inhibidores de mTOR, tales como sapanisertib y vistusertib (AZD2014), ME-344;
- inhibidores de mTOR/PI3K, tales como gedatolisib, GSK2141795, omipalisib, RG6114;
- 5 - inhibidores de Hsp90, tales como AUY922, onalespib (AT13387), SNX-2112, SNX5422;
- inhibidores de Oncogén murino de doble minuto (mdm2), tales como DS-3032b, RG7775, AMG-232, HDM201, y idasanutlin (RG7388);
- agonistas de CD137, tales como urelumab, utomilumab (PF-05082566);
- agonistas de STING, tales como ADU-S100 (MIW-815), SB-11285, MK-1454, SR-8291, AdVCA0848, GSK-532, SYN-STING, MSA-1, SR-8291;
- 10 - inhibidores de FGFR, tales como FGF-401, INCB-054828, BAY-1163877, AZD4547, JNJ-42756493, LY2874455, Debio-1347;
- inhibidores de sintasa de ácidos grasos (FASN), tal como TVB-2640;
- anticuerpos Anti-KIR monoclonal, tales como lirilumab (IPH-2102), IPH-4102;
- 15 - inhibidores de Antígeno CD19, tales como MOR208, MEDI-551, AFM-11, inebilizumab;
- aglomerantes CD44, tales como A6;
- inhibidores de proteína fosfatasa 2A (PP2A), tal como LB-100;
- inhibidores de CYP17, tales como seviteronel (VT-464), ASN-001, ODM-204, CFG920, acetato de abiraterona;
- 20 - agonistas de RXR, tal como IRX4204;
- antagonistas de hedgehog/suavizano (hh/Smo), tales como taladegib, patidegib;
- moduladores de complemento C3, tal como Imprime PGG;
- agonistas de IL-15, tales como ALT-803, NKTR-255, y hetIL-15;
- inhibidores de EZH2 (homólogo de potenciador de zeste 2), tales como tazemetostat,
- 25 CPI-1205, GSK-2816126;
- Virus oncolíticos, tales como pelareorep, CG-0070, terapia MV-NIS, HSV-1716, DS-1647, VCN-01, ONCOS-102, TBI-1401, tasadenoturev (DNX-2401), vocimagene amiretroreprevec, RP-1, CVA21, Celyvir, LOAd-703, OBP-301;

- Inhibidores de DOT1L (histona metiltransferasa), tal como pinometostat (EPZ-5676);
 - toxinas tales como toxina del cólera, ricina, exotoxina de *Pseudomonas*, toxina adenilato ciclasa de *Bordetella pertussis*, toxina diftérica y activadores de caspasa;
 - Plásmidos de ADN, tal como BC-819
- 5
- PLK inhibitors de PLK 1, 2, y 3, tal como volasertib (PLK1);
 - inhibidores de WEE1, tal como AZD-1775 (adavosertib);
 - inhibidores de Rho quinasa (ROCK), tales como AT13148, KD025;
 - inhibidores de ERK, tales como GDC-0994, LY3214996, MK-8353;
 - inhibidores de IAP, tales como ASTX660, debio-1143, birinapant, APG-1387, LCL-161;
- 10
- inhibidores de ARN polimerasa, tal ha lurbinectedin (PM-1183), CX-5461;
 - inhibidores de Tubulina, tales como PM-184, BAL-101553 (lisavanbulin), y OXI-4503, fluorapacin (AC-0001), plinabulin;
 - agonistas de Receptor tipo Toll 4 (TL4), tales como G100, GSK1795091, y PEPA-10;
 - inhibidores de factor de elongación 1 alfa 2, tal como plitidepsin;
- 15
- inhibidores de CD95, tales como APG-101, APO-010, asunercept;
 - inhibidores de WT1, tal como DSP-7888;
 - inhibidores de factor de empalme 3B subunidad1 (SF3B1), tal como H3B-8800
 - Inhibidores específicos de mutantes de PDGFR alfa/KIT tal como BLU-285;
 - agonistas de receptor gamma del retinoide Z (ROR γ), tal como LYC-55716;
- 20
- Inhibidores del regulador de apoptosis de secuencia 1 de leucemia de células mieloides (MCL1), tales como AMG-176, AMG-397, S-64315, AZD-5991, 483-LM, A-1210477, UMI-77, JKY-5-037; y derivados de tetrahidronaftaleno, incluidos los descritos en los documentos WO2016033486, WO2017147410 y WO2018183418.
 - Inhibidores de la proteína tirosina fosfatasa, no receptor tipo 11 (PTPN11 o SHP2), tales
- 25
- como TNO155 (SHP-099), RMC-4550, JAB-3068, RMC-4630; Los ejemplos de inhibidores de SHP2 incluyen, pero no se limitan a, los descritos en los documentos WO-2018172984 y WO-2017211303;
 - Inhibidores del progenitor hematopoyético quinasa 1 (HPK1); Los ejemplos de inhibidores del progenitor hematopoyético Quinasa 1 (HPK1) incluyen, pero no se limitan

- a, los descritos en WO-2018183956, WO-2018183964, WO-2018167147, WO-2018183964, WO-2016205942, WO-2018049214, WO-2018049200, WO-2018049191, WO-2018102366, WO-2018049152 y WO-2016090300;
- Inhibidores de la quinasa reguladora de la señal de apoptosis (ASK): Los inhibidores de ASK incluyen inhibidores de ASK1. Los ejemplos de inhibidores de ASK1 incluyen, pero no se limitan a, los descritos en los documentos WO 2011/008709 (Gilead Sciences) y WO 2013/112741 (Gilead Sciences).
 - Inhibidores de Tirosina Quinasa (BTK) de Bruton: los ejemplos de inhibidores de BTK incluyen, pero no se limitan a, (S)-6-amino-9-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-3-il)-7-(4-fenoxifenil)-7H-purin-8(9H)-ona, acalabrutinib (ACP-196), BGB-3111, CB988, HM71224, ibrutinib, M-2951 (evobrutinib), M7583, tirabrutinib (ONO-4059), PRN-1008, spebrutinib (CC-292), TAK-020, vecabrutinib, ARQ-531, SHR-1459, DTRMWXHS-12, TAS-5315
 - Inhibidores del grupo de diferenciación 47 (CD47): ejemplos de inhibidores de CD47 incluyen, entre otros, mAbs anti-CD47 (Vx-1004), mAbs anti-CD47 humanos (CNTO-7108), CC-90002, CC-90002-ST -001, anticuerpo anti-CD47 humanizado (Hu5F9-G4), NI-1701, NI-1801, RCT-1938 y TTI-621.
 - Inhibidores de quinasa dependiente de ciclina (CDK): los inhibidores de CDK incluyen inhibidores de CDK 1, 2, 3, 4, 6,7 y 9, tales como abemaciclib, alvocidib (HMR-1275, flavopiridol), AT-7519, dinaciclib, ibrance, FLX-925, LEE001, palbociclib, ribociclib, rigosertib, selinexor, UCN-01, SY1365, CT-7001, SY-1365, G1T38, milciclib, trilaciclib y TG-02.
 - Inhibidores del receptor de dominio de discoidina (DDR): Los inhibidores de DDR incluyen inhibidores de DDR1 y/o DDR2. Los ejemplos de inhibidores de DDR incluyen, pero no se limitan a, los descritos en WO 2014/047624 (Gilead Sciences), US 2009-0142345 (Takeda Pharmaceutical), US 2011-0287011 (Oncomed Pharmaceuticals), WO 2013/027802 (Chugai Pharmaceutical), y WO 2013/034933 (Imperial Innovations).
 - Inhibidores de histona desacetilasa (HDAC): los ejemplos de inhibidores de HDAC incluyen, pero no se limitan a, abexinostat, ACY-241, AR-42, BEBT-908, belinostat, CKD-581, CS-055 (HBI-8000), CUDC-907 (fimepinostat), entinostat, givinostat, mocetinostat, panobinostat, pracinostat, quisinostat (JNJ-26481585), resminostat, ricolinostat, SHP-141, valproic acid (VAL-001), vorinostat, tinostamustine, remetinostat, entinostat.

- Inhibidores de indolamina-pirrol-2,3-dioxigenasa (IDO1): los ejemplos de inhibidores de IDO1 incluyen, entre otros, BLV-0801, epacadostat, F-001287, GBV-1012, GBV-1028, GDC-0919, indoximod, Vacuna basada en NKTR-218, NLG-919, PF-06840003, derivados de piranonaftoquinona (SN-35837), resminostat, SBLK-200802, BMS-986205 y shIDO-ST, EOS-200271, KHK-2455, LY-3381916.
- Inhibidores de Janus Quinasa (JAK): Los inhibidores de JAK inhiben JAK1, JAK2 y/o JAK3. Los ejemplos de inhibidores de JAK incluyen, pero no se limitan a, AT9283, AZD1480, baricitinib, BMS-911543, fedratinib, filgotinib (GLPG0634), gandotinib (LY2784544), INCB039110 (itacitinib), lestaurtinib, momelotinib (CYT0387), NS-018, pazritinib (SB1518), peficitinib (ASP015K), ruxolitinib, tofacitinib (formalmente tasocitinib), INCB052793, y XL019.
- Inhibidores de la proteína similar a la lisil oxidasa (LOXL): Los inhibidores de LOXL incluyen inhibidores de LOXL1, LOXL2, LOXL3, LOXL4 y/o LOXL5. Los ejemplos de inhibidores de LOXL incluyen, pero no se limitan a, los anticuerpos descritos en el documento WO 2009/017833 (Arresto Biosciences). Los ejemplos de inhibidores de LOXL2 incluyen, pero no se limitan a, los anticuerpos descritos en los documentos WO 2009/017833 (Arresto Biosciences), WO 2009/035791 (Arresto Biosciences) y WO 2011/097513 (Gilead Biologics).
- Inhibidores de metaloproteasas de matriz (MMP): los inhibidores de MMP incluyen inhibidores de MMP1 a 10. Ejemplos de inhibidores de MMP9 incluyen, entre otros, marimastat (BB-2516), cipemastat (Ro 32-3555), GS-5745 (andecaliximab) y los descritos en WO 2012/027721 (Gilead Biologics).
- Inhibidores de proteína quinasa activada por mitógenos (MEK): los inhibidores de MEK incluyen antroquinonol, binimetinib, cobimetinib (GDC-0973, XL-518), MT-144, selumetinib (AZD6244), sorafenib, trametinib (GSK1120212), uprosertib + trametinib, 0325901, pimasertib, LTT462, AS703988, CC-90003, refametinib.
- Inhibidores de fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K): Los inhibidores de PI3K incluyen inhibidores de PI3K γ , PI3K δ , PI3K β , PI3K α y/o pan-PI3K. Ejemplos de inhibidores de PI3K incluyen, pero no se limitan a, ACP-319, AEZA-129, AMG-319, AS252424, AZD8186, BAY 10824391, BEZ235, buparlisib (BKM120), BYL719 (alpelisib), CH5132799, copanlisib (BAY 80- 6946), duvelisib, GDC-0032, GDC-0077, GDC-0941, GDC-0980, GSK2636771, GSK2269557, idelalisib (Zydelig®), INCB50465, IPI-145, IPI-443, IPI-549, KAR4141, LY302400342, LY302400342, MLN1117, OXY111A,

- PA799, PX-866, RG7604, rigosertib, RP5090, RP6530, SRX3177, taselisib, TG100115, TGR-1202 (umbralisib), TGX221, WX-037, X-339, X-414, XL408) (SAR245) , XL499, XL756, wortmannin, ZSTK474, y los compuestos descritos en WO 2005/113556 (ICOS), WO 2013/052699 (Gilead Calistoga), WO 2013/116562 (Gilead Calistoga), WO 2014/100765 (Gilead Calistoga), WO 2014/100767 (Gilead Calistoga) y WO 2014/201409 (Gilead Sciences).
- Inhibidores de tirosina-quinasa (TKI): los TKI pueden dirigirse a los receptores del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y los receptores del factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). Los ejemplos de inhibidores de la tirosina quinasa incluyen, pero no se limitan a, afatinib, ARQ-087 (derazantinib), asp5878, AZD3759, AZD4547, bosutinib, brigatinib, cabozantinib, cediranib, crenolanib, dacomitinib, dasatinib, dovitinib, erlotidain, E-6201 gefitinib, gilteritinib (ASP-2215), FP-1039, HM61713, icotinib, imatinib, KX2-391 (Src), lapatinib, lestaurtinib, lenvatinib, midostaurina, nintedanib, ODM-203, osimertinib (AZD-9291), ponatinib1 , quizartinib, radotinib, rociletinib, sulfatinib (HMPL-012), sunitinib, famitinib L-malato, (MAC-4), tivoanib, TH-4000 y MEDI-575 (anticuerpo anti-PDGFR). Los TKI también pueden apuntar al Tirosina Quinasa de bazo (SYK). Los ejemplos de inhibidores de SYK incluyen, entre otros, 6-(1H-indazol-6-il)-N-(4-morfolinofenil)imidazo[1,2-a]pirazin-8-amina, BAY-61-3606 , cerdulatinib (PRT-062607), entospletinib, fostamatinib (R788), HMPL-523, NVP-QAB 205 AA, R112, R343, tamarinib (R406), y los descritos en US 8450321 (Gilead Connecticut) y los descritos en US 2015/0175616.

Moduladores de Receptores tipo Toll (TLR)

- 25 **[00503]** En una realización, el agente terapéutico adicional es un modulador de TLR. Los moduladores de TLR pueden incluir moduladores de TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, TLR12 y TLR13.
- [00504]** En determinadas realizaciones, los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno descritos en el presente documento se combinan con un agonista de TLR. Ejemplos de agonistas de TLR incluyen, sin limitación: vesatolimod (GS-9620), lefitolimod, tilsotolimod, rintatolimod, DSP-0509, AL-034, G-100, cobitolimod, AST-008, motolimod, GSK-1795091, GSK-2245035, VTX -1463, GS-9688, LHC-165, BDB-001, RG-7854, telratolimod. Los ejemplos adicionales incluyen, pero no se limitan a, los compuestos descritos en la Patente de Estados Unidos N° 8.367.670 y los compuestos descritos en la Publicación de Solicitud de

Patente de Estados Unidos N° 2016/0289229. En una realización, el anticuerpo de la presente invención se puede combinar con un agonista de TLR7 como Vesatolimod. En otra realización, el anticuerpo de la presente invención puede combinarse con un agonista de TLR8.

[00505] Los ejemplos de moduladores de TLR3 incluyen rintatolimod, poli-ICLC, 5 RIBOXXON®, Apoxsim, RIBOXXIM®, IPH-33, MCT-465, MCT-475 y ND-1.1. Ejemplos de moduladores TLR7 incluyen GS-9620, GSK-2245035, imiquimod, resiquimod, DSR-6434, DSP-3025, IMO-4200, MCT-465, MEDI-9197, 3M-051, SB-9922, 3M-052, Limtop, TMX-30X, TMX-202, RG-7863, RG-7795 y los compuestos descritos en los documentos US20100143301 (Gilead Sciences), US20110098248 (Gilead Sciences) y US20090047249 10 (Gilead Sciences). Ejemplos de moduladores de TLR8 incluyen motolimod, resiquimod, 3M-051, 3M-052, MCT-465, IMO-4200, VTX-763, VTX-1463 y los compuestos descritos en US20140045849 (Janssen), US20140073642 (Janssen), WO2014/056953 (Janssen), WO2014/076221 (Janssen), WO2014/128189 (Janssen), US20140350031 (Janssen), WO2014/023813 (Janssen), US20080234251 (Array Biopharma), US20080306050 (Array 15 Biopharma), US2011002 Pharma952485 (Ventir1000x2 Pharma952485) (Ventirx Pharma), US20110118235 (Ventirx Pharma), US20120082658 (Ventirx Pharma), US20120219615 (Ventirx Pharma), US20140066432 (Ventirx Pharma), US20140088085 (Ventirx Pharma), US20140275167 (Novira Therapeutics30 Therapeutics11673) y US20. Ejemplos de moduladores TLR9 incluyen BB-001, BB-006, CYT-003, IMO-2055, IMO-2125, IMO-3100, 20 IMO-8400, IR-103, IMO-9200, agatolimod, DIMS-9054, DV-1079 , DV-1179, AZD-1419, leftolimod (MGN-1703), litenimod y CYT-003-QbG10.

[00506] Los ejemplos de inhibidores de TLR8 incluyen, pero no se limitan a, E-6887, IMO-4200, IMO-8400, IMO-9200, MCT-465, MEDI-9197, motolimod, resiquimod, GS-9688, VTX-1463 y VTX-763.

25 **[00507]** Los ejemplos de inhibidores de TLR9 incluyen, pero no se limitan a, AST-008, IMO-2055, IMO-2125, leftolimod, litenimod, MGN-1601 y PUL-042.

Agentes quimioterapéuticos

[00508] Es decir, los ejemplos de agentes quimioterapéuticos incluyen pero no se limitan a: agentes alquilantes tales como tiotepa y ciclofosfamida (CYTOXAN®); alquil sulfonatos 30 tales como busulfán, improsulfán y piposulfán; aziridinas tales como benzodepa, carbocuna, meturedpa y uredepa; etileniminas y metilamelaminas que incluyen altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilentiofosforamida y trimemilolomelamina; acetogeninas, especialmente bullatacina y bullatacinona; una camptotecina, que incluye un análogo sintético de topotecán; briostatina, calistatina; CC-1065, incluidos sus análogos

sintéticos adozelesin, carzelesin y bizelesin; criptoficinas, particularmente criptoficina 1 y
 criptoficina 8, dolastatina; duocarmicina, incluidos los análogos sintéticos KW-2189 y CBI-
 TMI; eleuterobina; 5-azacitidina; pancratistatin; sarcodictyin; espongistatina; mostazas
 nitrogenadas tales como clorambucilo, clornafazina, ciclofosfamida, glufosfamida,
 5 evofosfamida, bendamustina, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido
 de mecloretamina, melfalán, novembichina, fenesterina, prednimustina mostaza,
 trofurafamina; nitrosoureas como carmustina, clorozotocina, foremustina, lomustina,
 nimustina y ranimustina; antibióticos como los antibióticos enediyne (p. ej., caliqueamicina,
 especialmente caliqueamicina gamma II y caliqueamicina phiI1), dinemicina que incluye
 10 dinemicina A, bifosfonatos como clodronato, una esperamicina, cromóforo de
 neocarzinostatina y cromóforos relacionados con cromoproteínas de antibiótico enediyne,
 aclacinomicinas, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, carabicina,
 carrinomicina, carzinofilina, cromomicinas, dactinomicina, daunorrubicina, detorubicina, 6-
 diazo-5-oxo-L-norleucina, doxorubicina (incluyendo morfolino-doxorubicina,
 15 cianomorfolinodoxina, 2-doxorubicina, cianomorfolinodoxina-doxorubicina) epirubicina,
 esorubicina, idarrubicina, marcelomicina, mitomicinas tales como mitomicina C, ácido
 micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, porfiromicina, puomicina,
 quelamicina, rodorubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubicidina, zinostatina,
 y zorubicina; antimetabolitos como metotrexato y 5-fluorouracilo (5-FU); análogos del ácido
 20 fólico como demopterina, metotrexato, pteropterina y trimetrexato; análogos de purina tales
 como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamiprina y tioguanina; análogos de pirimidina tales
 como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, didesoxiuridina,
 doxifluridina, enocitabina y floxuridina; andrógenos tales como calusterona, propionato de
 dromostanolona, epitioestanol, mepitioestano y testolactona; anti-adrenales tales como
 25 aminoglutetimida, mitotano y trilostano; repintadores de ácido fólico tales como ácido
 frolínico; agentes radioterapéuticos como Radio-223; tricotecenos, especialmente toxina T-2,
 verracurina A, roridina A y anguidina; taxoides o taxanos tales como paclitaxel (TAXOL®),
 abraxano, docetaxel (TAXOTERE®), cabazitaxel, BIND-014, tesetaxel; análogos de platino
 tales como cisplatino y carboplatino, nanoplatino NC-6004; aceglatona; glucósido de
 30 aldofosfamida; ácido aminolevulínico; eniluracilo; amsacrina; hestrabucil; bisantreno;
 edatraxato; defofamina; demecolcina; diaziquona; elformtina; acetato de eliptinio; epotilona;
 etoglucid; nitrato de galio; hidroxiiurea; lentinan; leucovorina; lonidamina; maitansinoides tales
 como maitansina y ansamitocinas; mitoguazona; mitoxantrona; mopidamol; nitracrina;
 pentostatina; fenamet; pirarubicina; losoxantrona; fluoropirimidina; ácido folínico; ácido

podofilínico; 2-etilhidrazida; procarbazona; polisacárido-K (PSK); razoxano; rizoxina; sizofiran; espirogermanio; ácido tenuazónico; trabectedina, triaziquona; 2,2',2"-tricuorotriemilamina; uretano; vindesina; dacarbazina; manomustina; mitobronitol; mitolactol; pipobroman; gacitosina; arabinósido ("Ara-C"); ciclofosfamida; tiopeta; clorambucilo; 5 gemcitabina (GEMZAR®); 6-tioguanina; mercaptopurina; metotrexato; vinblastina; platino; etopósido (VP-16); ifosfamida; mitroxantrona; vancristina; vinorelbina (NAVELBINE®); novantrona; tenipósido; edatrexato; daunomicina; aminopterina; xeoloda; ibandronato; CPT-11; inhibidor de topoisomerasa RFS 2000; difluorometilornitina (DFMO); retinoides como ácido retinoico; capecitabina; NUC-1031; un régimen de FOLFOX (5-fluorouracilo, 10 leucovorina, oxaliplatino) (p. ej., FOLFOX-4, FOLFOX-6, FOLFOX-6 modificado (mFOLFOX-6), FOLFOX-7), FOLFIRI (fluorouracilo, leucovorina e irinotecán); y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores.

Agentes anti-hormonales

[00509] Los ejemplos de antiestrógenos y SERM incluyen, por ejemplo, tamoxifeno 15 (incluyendo NOLVADEX™), raloxifeno, droloxifeno, 4-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, keoxifeno, LY117018, onapristona y toremifeno (FARESTON®).

[00510] Los inhibidores de la enzima aromatasas regulan la producción de estrógenos en las glándulas suprarrenales. Los ejemplos incluyen 4(5)-imidazoles, aminoglutetimida, acetato de megestrol (MEGACE®), exemestano, formestano, fadrozol, vorozol (RIVISOR®), letrozol 20 (FEMARA®) y anastrozol (ARIMIDEX®).

[00511] Los ejemplos de anti-andrógenos incluyen apalutamida, abiraterona, enzalutamida, flutamida, galeterona, nilutamida, bicalutamida, leuprolida, goserelina, ODM-201, APC-100, ODM-204.

[00512] Los ejemplos de antagonistas del receptor de progesterona incluyen onapristona.

Agentes anti-angiogénicos

[00513] Los agentes anti-angiogénicos incluyen, pero no se limitan a, ácido retinoide y derivados del mismo, 2-metoxiestradiol, ANGIOSTATIN®, ENDOSTATIN®, regorafenib, necuparanib, suramina, escualamina, inhibidor tisular de metaloproteinasas-1, inhibidor tisular de metaloproteinasas-2, inhibidor del activador del plasminógeno-1, inhibidor del activador del plasminógeno-2, inhibidor derivado del cartílago, paclitaxel (nab-paclitaxel), factor plaquetario 4, sulfato de protamina (clupeína), derivados de quitina sulfatados (preparados a partir de cáscaras de cangrejo reina), polisacárido sulfatado complejo de peptidoglicano (sp-pg), estaurosporina, moduladores del metabolismo de la matriz que incluyen análogos de prolina como ácido 1-azetidina-2-carboxílico (LACA), cishidroxiprolina, d,I-3,4-

deshidroprolina, tiaprolina, α,α' -dipiridilo, beta-aminopropionitrilo fumarato, 4-propil-5-(4-piridinil)-2(3h)-oxazolona, metotrexato, mitoxantrona, heparina, interferones, macroglobulina-suero 2, inhibidor de metaloproteinasa-3 de pollo (ChIMP-3), quimostatina, beta-ciclodextrina tetradecasulfato, eponemicina, fumagilina, tiomalato de sodio y oro, d-
 5 penicilamina, beta-1-anticolagenasa-suero, alfa-2-antiplasmina, bisantreno, lobenzarit disódico, ácido n-2-carboxifenil-4-cloroantrónilico disódico o "CCA", talidomida, esteroide angiostático, carboxiaminoimidazol, inhibidores de metaloproteinasas como BB-94, inhibidores de S100A9 como tasquinimod. Otros agentes anti-angiogénesis incluyen anticuerpos, preferiblemente anticuerpos monoclonales contra estos factores de crecimiento
 10 angiogénicos: beta-FGF, alfa-FGF, FGF-5, isoformas de VEGF, VEGF-C, HGF/SF y Ang-1/Ang-2.

Agentes anti-fibróticos

[00514] Los agentes antifibróticos incluyen, entre otros, los compuestos tales como beta-aminopropionitrilo (BAPN), así como los compuestos descritos en el documento US 4965288
 15 relacionados con inhibidores de lisil oxidasa y su uso en el tratamiento de enfermedades y condiciones asociadas con la deposición anormal de colágeno y el documento US 4997854 relativo a compuestos que inhiben la LOX para el tratamiento de diversos estados fibróticos patológicos, que se incorporan aquí como referencia. Otros inhibidores ejemplares se describen en el documento US 4943593 relacionado con compuestos tales como 2-isobutil-3-fluoro-,
 20 cloro o bromo-alilamina, US 5021456, US 5059714, US 5120764, US 5182297, US 5252608 relacionado con 2-(1-naftiloximemil)-3-fluoroalilamina, y US 2004-0248871, que se incorporan aquí como referencia.

[00515] Los agentes antifibróticos ejemplares también incluyen las aminas primarias que reaccionan con el grupo carbonilo del sitio activo de las lisil oxidasas, y más particularmente
 25 aquellas que producen, después de unirse con el carbonilo, un producto estabilizado por resonancia, como los siguientes aminas primarias: emilemamina, hidracina, fenilhidrazina y sus derivados; derivados de semicarbazida y urea; aminonitrilos como BAPN o 2-nitroetilamina; haloaminas insaturadas o saturadas tales como 2-bromo-etilamina, 2-cloroetilamina, 2-trifluoroetilamina, 3-bromopropilamina y p-halobencilaminas; y
 30 selenohomocisteína lactona.

[00516] Otros agentes antifibróticos son agentes quelantes de cobre que penetran o no penetran en las células. Los compuestos ejemplares incluyen inhibidores indirectos que bloquean los derivados de aldehído que se originan a partir de la desaminación oxidativa de los residuos de lisilo e hidroxilisilo por las lisil oxidasas. Los ejemplos incluyen las tiolaminas,

particularmente D-penicilamina, y sus análogos tales como ácido 2-amino-5-mercapto-5-metilhexanoico, ácido D-2-amino-3-metil-3-((2-acetamidoetil)ditio)butanoico, ácido p-2-amino-3-metil-3-((2-aminoetil)ditio)butanoico, sodio-4 - ((p-1-dimetil-2-amino-2-carboxietil)ditio) butano sulfurato, 2 -acetamidoetil-2-acetamidoetanotiol sulfanato y sodio-4-mercaptobutanosulfonato trihidrato.

Agentes inmunoterapéuticos

[00517] Los agentes inmunoterapéuticos incluyen y no se limitan a anticuerpos terapéuticos adecuados para el tratamiento de pacientes. Algunos ejemplos de anticuerpos terapéuticos incluyen abagovomab, ABP-980, adecatumumab, afutuzumab, alemtuzumab, altumomab, amatuximab, anatumomab, arcitumomab, bavituximab, bectumomab, bevacizumab, bivatumumab, blinatumomab, brentuximab, cantuzumab, catumaxomab, CC49, cetuximab, citatumumab, cixutumumab, clivatuzumab, conatumumab, dacetuzumab, dalotuzumab, daratumumab, detumomab, dinutuximab, drozitumab, duligotumab, dusigitumab, ecromeximab, elotuzumab, emibetuzumab, ensituximab, ertumaxomab, etaracizumab, farletuzumab, ficlatuzumab, figitumumab, flanvotumab, futuximab, ganitumab, gemtuzumab, girentuximab, glembatumumab, ibritumomab, igovomab, imgatuzumab, indatuximab, inotuzumab, intetumumab, ipilimumab (YERVOY®, MDX-010, BMS-734016, and MDX-101), iratumumab, labetuzumab, lexatumumab, lintuzumab, lorvotuzumab, lucatumumab, mapatumumab, matuzumab, milatumumab, minretumomab, mitumomab, mogamulizumab, moxetumomab, naptumomab, narnatumab, necitumumab, nimotuzumab, nofetumomab, OBI-833, obinutuzumab, ocaratuzumab, ofatumumab, olaratumab, onartuzumab, oportuzumab, oregovomab, panitumumab, parsatumumab, pasudotox, patritumab, pentumomab, pertuzumab, pintumomab, primumab, racotumomab, radretumab, ramucirumab (Cyramza®), rilotumumab, rituximab, robatumumab, samalizumab, satumomab, sibrotuzumab, siltuximab, solitomab, simtuzumab, tacatumumab, taplitumomab, tenatumomab, teprotumumab, tigatumumab, tositumomab, trastuzumab, tucotuzumab, ublituximab, veltuzumab, vorsetuzumab, votumumab, zalutumumab, y 3F8.

[00518] Los anticuerpos terapéuticos ejemplificados se pueden marcar adicionalmente o combinar con una partícula de radioisótopo tal como indio-111, itrio-90 o yodo-131.

Terapia génica y terapia celular del cáncer

[00519] La terapia génica y la terapia celular del cáncer incluyen la inserción de un gen normal en células cancerosas para reemplazar un gen mutado o alterado; modificación genética para silenciar un gen mutado; enfoques genéticos para matar directamente las células cancerosas; incluyendo la infusión de células inmunes diseñadas para reemplazar la mayor

parte del propio sistema inmunológico del paciente para mejorar la respuesta inmunitaria a las células cancerosas, o activar el propio sistema inmunológico del paciente (células T o células asesinas naturales) para matar las células cancerosas, o encontrar y matar las Células cancerígenas; enfoques genéticos para modificar la actividad celular para alterar aún más la respuesta inmune endógena contra el cáncer.

Editores de genes

[00520] El sistema de edición del genoma se selecciona del grupo que consiste en: un sistema CRISPR/Cas9, un sistema de nucleasa con dedos de zinc, un sistema TALEN, un sistema de endonucleasas autodirigidas y un sistema de meganucleasa.

10 *Terapia celular CAR-T y Terapia celular TCR-T*

[00521] Una población de células efectoras inmunes diseñadas para expresar un receptor de antígeno quimérico (CAR), en el que el CAR comprende un dominio de unión al antígeno tumoral. La célula efectora inmunitaria es una célula T o una célula NK. Las células TCR-T están diseñadas para dirigirse a péptidos derivados de tumores presentes en la superficie de las células tumorales. Las células pueden ser autólogas o alogénicas.

[00522] En algunas realizaciones, el CAR comprende un dominio de unión a antígeno, un dominio transmembrana y un dominio de señalización intracelular.

[00523] En algunas realizaciones, el dominio intracelular comprende un dominio de señalización primario, un dominio coestimulador o tanto de un dominio de señalización primario como de un dominio coestimulador.

[00524] En algunas realizaciones, el dominio de señalización primario comprende un dominio de señalización funcional de una o más proteínas seleccionadas del grupo que consiste en CD3 zeta, CD3 gamma, CD3 delta, CD3 epsilon, FcR gamma común (FCERIG), FcR beta (Fc Epsilon RIb), CD79a, CD79b, Fcgamma RIIa, DAP10 y DAP12.

[00525] En algunas realizaciones, el dominio coestimulador comprende un dominio funcional de una o más proteínas seleccionadas del grupo que consiste en CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, CD40, PD-1, ICOS, función de linfocitos -antígeno asociado-1 (LFA-I), CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, un ligando que se une específicamente con CD83, CDS, ICAM-1, GITR, BAFFR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, NKp80 (KLRFI), CD160, CD19, CD4, CD8alpha, CD8beta, IL2R beta, IL2R gamma, IL7R alfa, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD 1 ld, ITGAE, CD103, ITGAL, CD 1 la, LFA-1, ITGAM, CD1 lb, ITGAX, CD1 lc, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244,2B4), CD84, CD96 (táctil), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D),

CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO -3), CULPA (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, NKp44, NKp30, NKp46 y NKG2D.

[00526] En algunas realizaciones, el dominio transmembrana comprende un dominio transmembrana de una proteína seleccionada del grupo que consiste en la cadena alfa, beta o zeta del receptor de células T, CD28, CD3 epsilon, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154, KIRDS2, OX40, CD2, CD27, LFA-1 (CD1 la, CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD40, BAFRR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, NKp80 (KLRF1), CD160, CD19, IL2R beta, IL2R gamma, IL7R u, ITGA1, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6 , CD49f, ITGAD, CD1 ld, ITGAE, CD103, ITGAL, CD1 la, LFA-1, ITGAM, CD1 lb, ITGAX, CD1 lc, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, TNFR2, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (táctil), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), CULPA (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, PAG/Cbp, NKp44, NKp30, NKp46, NKG2D y NKG2C.

[00527] En algunas realizaciones, el dominio de unión a antígeno se une a un antígeno tumoral. En algunas realizaciones, el antígeno tumoral se selecciona del grupo que consiste en: CD19; CD123; CD22; CD30; CD171; CS-1 (también denominado subconjunto 1 de CD2, CRACC, SLAMF7, CD319 y 19A24); Molécula 1 similar a lectina de tipo C (CLL-1 o CLECLI); CD33; variante III del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFRvIII); gangliósido G2 (GD2); gangliósido GD3 (aNeuSAc (2-8) aNeuSAc (2-3) bDGalp (1-4) bDGIcp (1-1) Cer); Maduración de células B de miembros de la familia del receptor de TNF (BCMA); Antígeno Tn ((Tn Ag) o (GaINAcu-Ser/Thr)); antígeno de membrana específico de la próstata (PSMA); Receptor huérfano de tipo tirosina quinasa 1 (RORI); Tipo Fms, tirosina quinasa 3 (FLT3); Glicoproteína 72 asociada a tumores (TAG72); CD38; CD44v6; Antígeno carcinoembrionario (CEA); Molécula de adhesión de células epiteliales (EPCAM); B7H3 (CD276); KIT (CD117); Subunidad alfa-2 del receptor de interleucina-13 (IL-13Ra2 o CD213A2); Mesotelina; Receptor alfa de interleucina 11 (IL-11Ra); antígeno de células madre de próstata (PSCA); Proteasa Serina 21 (Testisin o PRSS21); receptor 2 del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR2); Antígeno de Lewis (Y); CD24; Receptor beta del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR-beta); Antígeno embrionario 4 de estadio específico (SSEA-4); CD20; delta como 3 (DLL3); Receptor alfa de folato; Receptor de tirosina-proteína quinasa, ERBB2 (Her2/neu); Mucina 1, asociada a la superficie celular

(MUC1); receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR); molécula de adhesión de células neurales (NCAM); Prostasa; fosfatasa de ácido prostático (PAP); factor de elongación 2 mutado (ELF2M); Ephrin B2; proteína de activación de fibroblastos alfa (FAP); receptor del factor de crecimiento 1 similar a la insulina (receptor de IGF-I); anhidrasa carbónica IX (CAIX); Subunidad de proteasoma (prosoma, macrodolor), tipo beta, 9 (LMP2); glicoproteína 100 (gp100), proteína de fusión de oncogén que consiste en la región de agrupamiento del punto de ruptura (BCR) y homólogo 1 del oncogén viral de leucemia murina de Abelson (Abl) (bcr-abl); tirosinasa; receptor 2 de efrina tipo A (EphA2); Fucosyl GM1; molécula de adhesión de sialil Lewis (sLe); gangliósido GM3 (aNeuSAc (2-3) bDGalp (1-4) bDGlc (1-1) Cer); transglutaminasa 5 (TGS5); antígeno asociado a melanoma de alto peso molecular (HMWMAA); gangliósido o-acetil-GD2 (OAcGD2); Receptor beta de folato, marcador endotelial tumoral 1 (TEM1/CD248); relacionados con el marcador endotelial tumoral 7 (TEM7R); seis antígenos epiteliales transmembrana de la próstata I (STEAP1); claudina 6 (CLDN6); receptor de la hormona estimulante del tiroides (TSHR); Receptor de clase C acoplado a proteína G grupo 5, miembro D (GPCSD); marco de lectura abierto 61 del cromosoma X (CXORF61); CD97; CD179a; quinasa del linfoma anaplásico (ALK); Ácido polisálico; específico de placenta 1 (PLAC1); porción de hexasacáridos de globoH glicoceramida (GloboH); antígeno de diferenciación de la glándula mamaria (NY-BR-1); uroplaquina 2 (UPK2); Receptor celular 1 del virus de la hepatitis A (HAVCR1); adrenoceptor beta 3 (ADRB3); pannexina 3 (PANX3); receptor 20 acoplado a proteína G (GPR20); complejo de antígeno de linfocitos 6, locus K 9 (LY6K); receptor olfativo 51E2 (ORS IE2); Proteína del marco de lectura alternativo de TCR gamma (TARP); Proteína del tumor de Wilms (WT1); Antígeno 1 de cáncer/testículo (NY-ESO-1); Antígeno 2 de cáncer/testículo (LAGE-1a); Antígeno 1 asociado a melanoma (MAGE-A1); Gen 6 de variante de translocación de ETS, ubicado en el cromosoma 12p (ETV6-AML); proteína de esperma 17 (SPA17); Familia de antígenos X, miembro 1A (XAGE1); receptor 2 de la superficie celular de unión a angiopoyetina (Tie 2); antígeno 1 de testículo de cáncer de melanoma (MADCT-1); antígeno 2 de testículo de cáncer de melanoma (MAD-CT-2); Antígeno 1 relacionado con Fos; proteína tumoral p53, (p53); mutante p53; prostatein; survivin; telomerasa; antígeno tumoral de carcinoma de próstata 1 (PCTA-1 o Galectina 8), antígeno de melanoma reconocido por las células T 1 (MelanA o MARTI); Mutante de sarcoma de rata (Ras); transcriptasa inversa de telomerasa humana (hTERT); puntos de corte de la translocación del sarcoma; inhibidor de la apoptosis del melanoma (ML-IAP); ERG (proteasa transmembrana, gen de fusión de serina 2 (TMPRSS2) ETS); N-acetilglucosaminiltransferasa V (NA17); proteína de caja apareada Pax-

- 3 (PAX3); Receptor de andrógenos; Ciclina B1; homólogo derivado de neuroblastoma de oncogén viral de mielocitomatosis aviar v-myc (MYCN); Miembro de la familia Ras Homolog C (RhoC); Proteína 2 relacionada con tirosinasa (TRP-2); Citocromo P450 1B1 (CYP 1B1); Factor de unión a CCCTC (proteína de dedo de zinc) similar (BORIS o hermano del regulador de sitios impresos), antígeno de carcinoma de células escamosas reconocido por células T 3 (SART3); Proteína de caja emparejada Pax-5 (PAX5); proteína de unión a proacrosina sp32 (OY-TES I); proteína tirosina quinasa específica de linfocitos (LCK); proteína 4 de anclaje de quinasa (AKAP-4); sarcoma sinovial, punto crítico 2 de X (SSX2); Receptor para productos finales de glicación avanzada (RAGE-I); ubicuo renal 1 (RUI); ubicuo renal 2 (RU2); legumain; virus del papiloma humano E6 (HPV E6); virus del papiloma humano E7 (HPV E7); carboxil esterasa intestinal; proteína de choque térmico 70-2 mutada (mut hsp70-2); CD79a; CD79b; CD72; Receptor 1 similar a inmunoglobulina asociado a leucocitos (LAIR1); Fragmento Fc del receptor de IgA (FCAR o CD89); Miembro 2 de la subfamilia A del receptor de tipo inmunoglobulina de leucocitos (LILRA2); Miembro f de la familia de tipo molécula CD300 (CD300LF); Miembro A de la familia 12 del dominio de lectina de tipo C (CLEC12A); antígeno 2 de células estromales de médula ósea (BST2); Módulo similar a EGF que contiene el receptor similar a la hormona similar a mucina 2 (EMR2); antígeno de linfocitos 75 (LY75); Glypican-3 (GPC3); De tipo receptor Fc 5 (FCRL5); y polipéptido 1 de tipo inmunoglobulina lambda (IGLL1).
- 20 **[00528]** En algunas realizaciones, el antígeno tumoral se selecciona de CD150, 5T4, ActRIIA, B7, BMCA, CA-125, CCNA1, CD123, CD126, CD138, CD14, CD148, CD15, CD19, CD20, CD200, CD21, CD22, , CD23, CD24, CD25, CD26, CD261, CD262, CD30, CD33, CD362, CD37, CD38, CD4, CD40, CD40L, CD44, CD46, CD5, CD52, CD53, CD54, CD56, CD66a-d, CD74, CD8 , CD80, CD92, CE7, CS-1, CSPG4, ED-B fibronectina, EGFR, EGFRvIII, EGP-2, EGP-4, EPHA2, ErbB2, ErbB3, ErbB4, FBP, GD2, GD3, HER1-HER2 en combinación, HER2- HER3 en combinación, HERV-K, glicoproteína de la envoltura del VIH-1 gp120, glicoproteína de la envoltura del VIH-1 gp41, HLA-DR, HM1.24, HMW-MAA, Her2, Her2/neu, IGF-1R, IL-11Ralfa, IL-13R-alfa2, IL-2, IL-22R-alfa, IL-6, IL-6R, Ia, Ii, L1-CAM, molécula de adhesión de células L1, Lewis Y, LI-CAM, MAGE A3, MAGE- A1, MART-1, MUC1, ligandos NKG2C, ligandos NKG2D, NYESO-1, OEPHa2, PIGF, PSCA, PSMA, ROR1, T101, TAC, TAG72, TIM-3, TRAIL-R1, TRAIL-R1 (DR4), TRAIL -R2 (DR5), VEGF, VEGFR2, WT-I, un receptor acoplado a proteína G, alfafetoproteína (AFP), un factor de iogénesis ang, una molécula de unión análoga exógena (ExoCBM), producto oncogénico, receptor anti-folato, c-Met, antígeno carcinoembrionario (CEA), ciclina (D1),
- 30

efrinaB2, antígeno tumoral epitelial, receptor de estrógeno, receptor de acetilcolina e fetal, proteína de unión a folato, gp100, antígeno de superficie de hepatitis B, cadena kappa, cadena ligera kappa, kdr, cadena lambda, livin, antígeno asociado al melanoma, mesotelina, homólogo de ratón doble minuto 2 (MDM2), mucina 16 (MUC16), p53 mutado, ras mutado, antígenos de necrosis, antígeno oncofetal, ROR2, receptor de progesterona, antígeno prostático específico, tEGFR, tenascina, P2-Microgiobuina, Fc Receptor-like 5 (FcRL5).

[00529] Los ejemplos no limitantes de terapias celulares son: Algenpantucel-L, Sipuleucel-T, (BPX-501) rivogenlecleucel US9089520, WO2016100236, AU-105, ACTR-087, células asesinas naturales alogénicas activadas CNDO-109-AANK, MG- 4101, AU-101, BPX-601, FATE-NK100, LFU-835 células madre hematopoyéticas, Imilecleucel-T, baltaleucel-T, PNK-007, UCARTCS1, ET-1504, ET-1501, ET-1502, ET-190 , CD19-ARTEMIS, ProHema, Terapia con células madre de médula ósea tratada con FT-1050, células CD4CARNK-92, CryoStim, AlloStim, células huCART-meso transducidas lentivirales, células CART-22, células EGFRt/19-28z/4-1BBL CAR T, células 4H11-28z / fIL-12 / EFGRt T autólogas, CCR5-SBC-728-HSPC, CAR4-1BBZ, CH-296, dnTGFbRII-NY-ESOc259T, Ad-RTS-IL-12, IMA-101, IMA -201, CARMA-0508, TT-18, CMD-501, CMD-503, CMD-504, CMD-502, CMD-601, CMD-602, CSG-005.

[00530] En determinadas realizaciones, la terapia celular comprende un agente dirigido a: alfa-fetoproteína, como ET-1402, y AFP-TCR; Receptor 1 de la toxina del carbunco, tal como terapia con células T anti-TEM8 CAR; Antígenos de maduración de células B (BCMA), como bb-2121, UCART-BCMA, ET-140, KITE-585, MCM-998, LCAR-B38M, CART-BCMA, SEA-BCMA, BB212, UCART-BCMA, ET- 140, P-BCMA-101 y AUTO-2 (ABRIL-CAR); Anticuerpos anti-CLL-1, como KITE-796; Terapia de células de tanque anti-PD-L1-CAR, como KD-045; Homólogo 6 de B7, tal como CAR-NKp30 y CAR-B7H6; Antígeno de linfocitos B CD19, como TBI-1501, CTL-119 células T huCART-19, JCAR-015 US7446190, JCAR-014, JCAR-017, (WO2016196388, WO2016033570, WO2015157386), axicabtagene ciloleucel) (KTE-C19) US7741465, US6319494, UCART-19, EBV-CTL, T tisagenlecleucel-T (CTL019), WO2012079000, WO2017049166, CD19CAR-CD28-CD3zeta-EGFRt que expresan células T, CD19 / 4-1BBL terapia de células T con CAR blindado, C-CAR -011, CIK-CAR.CD19, CD19CAR-28-células T zeta, PCAR-019, MatchCART, DSCAR-01 e IM19 CAR-T; Antígeno de linfocito B CD20, tal como ACTR707 + Rituximab; Antígeno de linfocito B CD22, tal como JCAR-018 (ver WO2016090190); NY-ESO-1, como GSK-3377794 y TBI-1301; Anhidrasa carbónica, como DC-Ad-GMCAIX; Gen suicida de la caspasa 9, tal como CaspaCIDE DLI y BPX-501; CCR5, como SB-728; CDw123, como MB-102 y UCART-123;

CD20m como CBM-C20.1; CD22 como UCART-22; CD4, como ICG-122; CD30, como CART30 (CBM-C30.1; CD33, como CIK-CAR.CD33; CD38, como T-007, UCART-38; ligando CD40, como BPX-201; Moduladores de proteína 5 de CEACAM, como MG7-CART; Claudin 6, como CSG-002; EBV, como CMD-003; MUC16, como células T autólogas 4H11-28z / fIL-12 / EFGRt; Endonucleasa, como PGN-514 y PGN-201; Linfocitos T específicos del virus de Epstein-Barr, tales como TT-10; Gangliósido (GD2), tal como 4SCAR-GD2; Glutamato carboxipeptidasa II, tal como CIK-CAR.PSMA, CART-PSMA-TGFβRDN, P-PSMA-101; Hemoglobina, como PGN-236; Receptor del factor de crecimiento de hepatocitos, como anti-cMet RNA CAR T; Proteína E7 del virus del papiloma humano, como KITE-439; Receptor III de inmunoglobulina gamma Fc, como ACTR087; IL-12, como DC -RTS-IL-12; agonista de IL-12/mucina 16, como JCAR-020; IL-13 alfa 2, como MB-101; K-Ras GTPasa, como terapia de células anti-KRAS G12V mTCR; Célula neural molécula de adhesión L1 L1CAM (CD171), como JCAR-023; Proteína de membrana latente 1 / Proteína de membrana latente 2, como Ad5f35-LMPd1-2-tra células dendríticas autólogas inducidas; Antígeno 10 asociado a melanoma, tal como MAGE-A10C796T MAGE-A10 TCR; Antígeno asociado a melanoma 3/antígeno asociado a melanoma 6 (MAGE A3/A6) tal como KITE-718; Mesotelina, como CSG-MESO, TC-210; NKG2D, como NKR-2; Receptor de tirosina quinasa Ntrkr1, tal como JCAR-024; PRAME, como BPX-701; antígeno gp100, tal como IMCgp100; Proteína del tumor de Wilms, como JTCR-016 y WT1-CTL.

20 *Tipos de cáncer*

[00531] En algunas realizaciones, el cáncer es linfoma de Burkitt, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin (NHL), linfoma no Hodgkin indolente (iNHL), iNHL refractario, mieloma múltiple (MM), leucemia mieloide crónica (LMC), leucemia linfocítica (LLA), LLA de células B, leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia linfocítica crónica (LLC), linfoma de linfocitos pequeños (SLL), síndrome mielodisplásico (MDS), enfermedad mieloproliferativa (MPD), linfoma de células del manto (LCM), linfoma folicular (FL), macroglobulinemia de Waldstrom (WM), linfoma de células T, linfoma de células B, linfoma difuso de células B grandes (DLBCL) o linfoma de zona marginal (MZL). En una realización, el cáncer es una enfermedad residual mínima (ERM). En una realización adicional, el cáncer se selecciona de linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin (NHL), linfoma no Hodgkin indolente (iNHL) y iNHL refractario. En cierta forma de realización, el cáncer es linfoma no Hodgkin indolente (iNHL). En alguna realización, el cáncer es iNHL refractario. En una realización, el cáncer es leucemia linfocítica crónica (CLL). En otra realización, el cáncer es linfoma difuso de células B grandes (DLBCL).

[00532] En determinadas realizaciones, el cáncer es un tumor sólido que se selecciona del grupo que consiste en cáncer de páncreas; cáncer de vejiga; cáncer colonrectal; cáncer de mama, incluido el cáncer de mama metastásico; cáncer de próstata, que incluye cáncer de próstata dependiente de andrógenos e independiente de andrógenos; cáncer de riñón, que incluye, por ejemplo, carcinoma de células renales metastásico; cáncer hepatocelular; cáncer de pulmón, que incluye, por ejemplo, cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), carcinoma bronquioloalveolar (BAC) y adenocarcinoma de pulmón; cáncer de ovario, que incluye, por ejemplo, cáncer peritoneal primario o epitelial progresivo; cáncer de cuello uterino; cáncer gástrico; cáncer de esófago; cáncer de cabeza y cuello, que incluye, por ejemplo, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello; melanoma; cáncer neuroendocrino, incluidos tumores neuroendocrinos metastásicos; tumores cerebrales, que incluyen, por ejemplo, glioma, oligodendroglioma anaplásico, glioblastoma multiforme del adulto y astrocitoma anaplásico del adulto; cáncer de hueso; y sarcoma de tejidos blandos, carcinoma hepático, cáncer de recto, carcinoma de pene, cáncer de vulva, cáncer de tiroides, carcinoma de glándulas salivales, carcinoma endometrial o uterino, hepatoma, cáncer hepatocelular, cáncer de hígado, cáncer gástrico o de estómago incluyendo cáncer gastrointestinal, cáncer de peritoneo, carcinoma escamoso de pulmón, cáncer gastroesofágico, cáncer de vías biliares, cáncer de vesícula biliar, cáncer colorrectal/apendicular, cáncer de células escamosas (por ejemplo, cáncer epitelial de células escamosas).

[00533] Cualquiera de los métodos de tratamiento proporcionados se puede usar para tratar el cáncer en varias etapas. A modo de ejemplo, el estadio del cáncer incluye, pero no se limita a, temprano, avanzado, localmente avanzado, en remisión, refractario, recurrente después de la remisión y progresivo.

Sujetos

[00534] Cualquiera de los métodos de tratamiento proporcionados puede usarse para tratar a un sujeto (por ejemplo, un ser humano) al que se le ha diagnosticado o se sospecha que tiene cáncer. Como se usa en este documento, un sujeto se refiere a un mamífero, que incluye, por ejemplo, un ser humano.

[00535] En algunas realizaciones, el sujeto puede ser un ser humano que presenta uno o más síntomas asociados con el cáncer o la enfermedad hiperproliferativa. En algunas realizaciones, el sujeto puede ser un ser humano que presenta uno o más síntomas asociados con el cáncer. En algunas realizaciones, el sujeto se encuentra en una etapa temprana de un cáncer. En otras realizaciones, el sujeto se encuentra en una etapa avanzada de cáncer.

[00536] En ciertos casos, el sujeto puede ser un ser humano que está en riesgo o

- predispuesto genéticamente o de otro modo (por ejemplo, factor de riesgo) a desarrollar cáncer o enfermedad hiperproliferativa que ha sido diagnosticada o no. Como se usa en este documento, un sujeto "en riesgo" es un sujeto que está en riesgo de desarrollar cáncer. El sujeto puede tener o no una enfermedad detectable y puede o no haber presentado una enfermedad
- 5 detectable antes de los métodos de tratamiento descritos en el presente documento. Un sujeto de riesgo puede tener uno o más de los denominados factores de riesgo, que son parámetros medibles que se correlacionan con el desarrollo del cáncer, que se describen en este documento. Un sujeto que tenga uno o más de estos factores de riesgo tiene una mayor probabilidad de desarrollar cáncer que un individuo sin estos factores de riesgo. Estos factores de riesgo pueden
- 10 incluir, por ejemplo, edad, sexo, raza, dieta, antecedentes de enfermedades previas, presencia de una enfermedad precursora, consideraciones genéticas (por ejemplo, hereditarias) y exposición ambiental. En algunas realizaciones, los sujetos con riesgo de cáncer incluyen, por ejemplo, aquellos que tienen parientes que han experimentado la enfermedad y aquellos cuyo riesgo se determina mediante análisis de marcadores genéticos o bioquímicos.
- 15 **[00537]** Además, el sujeto puede ser un ser humano que se somete a una o más terapias estándar, como quimioterapia, radioterapia, inmunoterapia, cirugía o una combinación de las mismas. Por consiguiente, se pueden administrar uno o más inhibidores de quinasas antes, durante o después de la administración de quimioterapia, radioterapia, inmunoterapia, cirugía o una combinación de los mismos.
- 20 **[00538]** En determinadas realizaciones, el sujeto puede ser un ser humano que es (i) sustancialmente refractario a al menos un tratamiento de quimioterapia, o (ii) está en recaída después del tratamiento con quimioterapia, o ambos (i) y (ii). En algunas realizaciones, el sujeto es refractario a al menos dos, al menos tres o al menos cuatro tratamientos de quimioterapia (incluidas las quimioterapias estándar o experimentales).
- 25 *Terapias de combinación para linfoma y leucemia*
- [00539]** Algunos agentes de quimioterapia son adecuados para tratar el linfoma o la leucemia. Estos agentes incluyen aldesleucina, alvocidib, amifostina trihidrato, aminocamptotecina, antineoplastón A10, antineoplastón AS2-1, globulina antitimocito, trióxido de arsénico, inhibidor de la proteína de la familia Bcl-2 ABT-263, beta aletina, BMS-
- 30 345541, bortezomib (VELCADE®), bortezomib (VELCADE®, PS-341), briostatina 1, bulsulfán, campath-1H, carboplatino, carfilzomib (Kyprolis®), carmustina, acetato de caspofungina, CC-5103, clorambucilo, CHOP (ciclofosfamida, doxorrubina, vincristina, y prednisona), cisplatino, cladribina, clofarabina, curcumina, CVP (ciclofosfamida, vincristina y prednisona), ciclofosfamida, ciclosporina, citarabina, denileucina diftitox, dexametasona,

docetaxel, dolastatina 10, doxorubicina, clorhidrato de doxorubicina, DT-PACE (dexametasona, talidomida, cisplatino, doxorubicina, ciclofosfamida y etopósido), enzastaurina, epoetina alfa, etopósido, everolimus (RAD001), FCM (fludarabina, ciclofosfamida y mitoxantrona), FCR (fludarabina, ciclofosfamida y rituximab), retinida, 5 filgrastim, flavopiridol, fludarabina, FR (fludarabina y rituximab), geldanamicina (17 AAG), hyperCVAD (ciclofosfamida hiperfraccionada, vincristina, doxorubicina, dexametasona, metotrexato y citarabina), eifosfamida, eifosfamida clorhidrato de irinotecán, interferón alfa-2b, ixabepilona, lenalidomida (REVLIMID®, CC-5013), células asesinas activadas por linfocinas, MCP (mitoxantrona, clorambucilo y prednisolona), melfalán, mesna, metotrexato, 10 clorhidrato de mitoxantrona gadnoolinio, mofetilina, mofetina, nelarabina, obatoclax (GX15-070), oblimersen, acetato de octreotida, ácidos grasos omega-3, Omr-IgG-am (WNIG, Omrix), oxaliplatino, paclitaxel, palbociclib (PD0332991), pegfilgrastim, hidroxidona losina dorada prednisolona, prednisona, ligando de flt3 recombinante, trombopoyetina humana recombinante, interferón alfa recombinante, interleucina 11 recombinante, interleucina 12 15 recombinante, rituximab, R-CHOP (rituximab y CHOP), R-CVP (rituximab y CVP), R-FCM (rituximab y FCM), R-ICE (rituximab e ICE) y R MCP (rituximab y MCP), R-roscovitina (seliciclib, CYC202), sargramostim, citrato de sildenafil, simvastatina, sirolimus, esteril sulfonas, tacrolimus, tanespimicina, temsirolimus (CCI-779), talidomida, linfocitos terapéuticos alogénicos, tiotepa, tipifarnib, vincristina, vincristina sulfato de HAamerol, 20 vinrato de anilida y ácido hidroxámico), vemurafenib (Zelboraf®), venetoclax (ABT-199).

[00540] Un enfoque modificado es la radioinmunoterapia, en la que un anticuerpo monoclonal se combina con una partícula de radioisótopo, como indio-111, itrio-90 y yodo-131. Ejemplos de terapias combinadas incluyen, pero no se limitan a, yodo-131 tositumomab (BEXXAR®), itrio-90 ibritumomab tiuxetan (ZEVALIN®) y BEXXAR® con CHOP.

25 **[00541]** Las terapias mencionadas anteriormente se pueden complementar o combinar con un trasplante o tratamiento de células madre. Los procedimientos terapéuticos incluyen trasplante de células madre de sangre periférica, trasplante autólogo de células madre hematopoyéticas, trasplante autólogo de médula ósea, terapia con anticuerpos, terapia biológica, terapia con inhibidores de enzimas, irradiación corporal total, infusión de células 30 madre, ablación de médula ósea con soporte de células madre, trasplante in vitro de células madre de sangre periférica tratadas, trasplante de sangre de cordón umbilical, técnica de inmunoenzimas, terapia de rayos gamma de cobalto 60 de bajo LET, bleomicina, cirugía convencional, radioterapia y trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas no mieloablativas.

Tratamiento combinado de linfomas no Hodgkin

- [00542]** El tratamiento de los linfomas no Hodgkin (NHL), especialmente los de origen de células B, incluye el uso de anticuerpos monoclonales, enfoques de quimioterapia estándar (por ejemplo, CHOP, CVP, FCM, MCP y similares), radioinmunoterapia y combinaciones de los mismos, especialmente la integración de una terapia de anticuerpos con quimioterapia.
- [00543]** Los ejemplos de anticuerpos monoclonales no conjugados para el tratamiento de cánceres de células B/NHL incluyen rituximab, alemtuzumab, anticuerpos anti-CD20 humanos o humanizados, lumiliximab, ligando inductor de apoptosis relacionado con anti-TNF (anti-TRAIL), bevacizumab, galiximab, epratuzumab, SGN-40 y anti-CD74.
- [00544]** Los ejemplos de agentes de anticuerpos experimentales usados en el tratamiento de cánceres de linfocitos B/NHL incluyen ofatumumab, ha20, PRO131921, alemtuzumab, galiximab, SGN-40, CHIR-12.12, epratuzumab, lumiliximab, apolizumab, milatuzumab y bevacizumab.
- [00545]** Los ejemplos de regímenes estándar de quimioterapia para cánceres de células B / NHL incluyen CHOP, FCM, CVP, MCP, R-CHOP, R-FCM, R-CVP y R MCP.
- [00546]** Los ejemplos de radioinmunoterapia para cánceres de células B/NHL incluyen itrio-90 ibritumomab tiuxetan (ZEVALIN®) y yodo-131 tositumomab (BEXXAR®).

Terapia de combinación para linfoma de células del manto

- [00547]** Los tratamientos terapéuticos para el linfoma de células del manto (MCL) incluyen quimioterapias de combinación tales como CHOP, hyperCVAD y FCM. Estos regímenes también pueden complementarse con el anticuerpo monoclonal rituximab para formar terapias de combinación R-CHOP, hyperCVAD-R y R-FCM. Cualquiera de las terapias mencionadas anteriormente se puede combinar con el trasplante de células madre o ICE para tratar el MCL.
- [00548]** Un enfoque alternativo para tratar el MCL es la inmunoterapia. Una inmunoterapia usa anticuerpos monoclonales como rituximab. Otro usa vacunas contra el cáncer, como GTO-99, que se basan en la composición genética del tumor de un paciente individual.
- [00549]** Un enfoque modificado para tratar el MCL es la radioinmunoterapia, en la que un anticuerpo monoclonal se combina con una partícula de radioisótopo, como tositumomab de yodo 131 (BEXXAR®) e ibritumomab tiuxetan de itrio 90 (ZEVALIN®). En otro ejemplo, BEXXAR® se usa en un tratamiento secuencial con CHOP.
- [00550]** Otros enfoques para tratar el MCL incluyen el trasplante autólogo de células madre junto con quimioterapia de dosis alta, la administración de inhibidores del proteasoma como bortezomib (VELCADE® o PS-341) o la administración de agentes antiangiogénicos como la talidomida, especialmente en combinación con rituximab.

[00551] Otro enfoque de tratamiento es la administración de fármacos que conducen a la degradación de la proteína Bcl-2 y aumentan la sensibilidad de las células cancerosas a la quimioterapia, como oblimersen, en combinación con otros agentes quimioterapéuticos.

[00552] Un enfoque de tratamiento adicional incluye la administración de inhibidores de mTOR, que pueden conducir a la inhibición del crecimiento celular e incluso a la muerte celular. Ejemplos no limitantes son sirolimus, temsirolimus (TORISEL®, CCI-779), CC-115, CC-223, SF-1126, PQR-309 (bimiralisib), voxtalisib, GSK-2126458 y temsirolimus en combinación con RITUXAN®, VELCADE® u otros agentes quimioterapéuticos.

[00553] Se han descrito otras terapias recientes para MCL. Dichos ejemplos incluyen flavopiridol, palbociclib (PD0332991), R-roscovitina (seliciclib, CYC202), estiril sulfonas, obatoclast (GX15-070), TRAIL, anticuerpos anti-receptores de muerte TRAIL DR4 y DR5, temsirolimus (TORISEL®, CCI-779), everolimus (RAD001), BMS-345541, curcumina, SAHA, talidomida, lenalidomida (REVLIMID®, CC-5013) y geldanamycin (17 AAG).

Terapia combinada de macroglobulinemia de Waldenstrom

[00554] Los agentes terapéuticos utilizados para tratar la macroglobulinemia de Waldenstrom (WM) incluyen aldesleucina, alemtuzumab, alvocidib, amifostina trihidrato, aminocamptotecina, antineoplastón A10, antineoplastón AS2-1, globulina antitumores, trióxido de arsénico humano PPC 96, Inhibidor de la proteína de la familia Bcl-2 ABT-263, beta aletina, bortezomib (VELCADE®), briostatina 1, busulfán, campath-1H, carboplatino, carmustina, acetato de caspofungina, CC-5103, cisplatino, clofarabina, ciclofosfamida, ciclosporina, denileucina difitox, dexametasona, docetaxel, dolastatina 10, hidrocloreto de doxorubicina, DT-PACE, enzastaurina, epoetina alfa, epratuzumab (hLL2- anticuerpo humanizado anti-CD22), etopósido, everolimus, fenretinida, filgrastim, fludarabina, anticuerpo MN-monoclonal -14, yodo-131 tositumomab, clorhidrato de irinotecán, ixabepilona, células asesinas activadas por linfocinas, melfalán, mesna, metotrexato, clorhidrato de mitoxantrona, anticuerpo monoclonal CD19 (su ch como tisagenlecleucel-T, CART-19, CTL-019), anticuerpo monoclonal CD20, motexafina gadolinio, micofenolato de mofetilo, nelarabina, oblimersen, acetato de octreotida, ácidos grasos omega-3, oxaliplatino, paclitaxel, pegfilgrastim, doxilidoro pegilado, perifosina, prednisona, ligando de flt3 recombinante, trombopoyetina humana recombinante, interferón alfa recombinante, interleucina-11 recombinante, interleucina-12 recombinante, rituximab, sargramostim, citrato de sildenafil (VIAGRA®), simvastatina, sirolimus, tacrolimus, tanspindomidecina, terapéutica linfocitos, tiotepa, tipifarnib, tositumomab, veltuzumab, sulfato de vincristina, ditartrato de vinorelbina, vorinostat, vacuna peptídica WT1 126-134, vacuna peptídica análoga WT-1, itrio-90

ibritumomab tiuxetan, itrio-90 humanizado y cualquier combinación de los mismos.

[00555] Los ejemplos de procedimientos terapéuticos usados para tratar la WM incluyen trasplante de células madre de sangre periférica, trasplante autólogo de células madre hematopoyéticas, trasplante autólogo de médula ósea, terapia con anticuerpos, terapia
5 biológica, terapia con inhibidores enzimáticos, irradiación corporal total, infusión de células madre, médula ósea ablación con soporte de células madre, trasplante de células madre de sangre periférica tratadas in vitro, trasplante de sangre de cordón umbilical, técnicas de inmunoenzimas, terapia de rayos gamma de cobalto 60 de baja LET, bleomicina, cirugía convencional, radioterapia y trasplante de células madre hematopoyéticas alogénicas no
10 mieloablativas.

Tratamiento combinado difuso de linfoma de células B grandes

[00556] Los agentes terapéuticos usados para tratar el linfoma difuso de células B grandes (DLBCL) incluyen ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisona, anticuerpos monoclonales anti-CD20, etopósido, bleomicina, muchos de los agentes enumerados para WM
15 y cualquier combinación de los mismos, como como ICE y R ICE.

Terapia combinada para leucemia linfocítica crónica

[00557] Los ejemplos de agentes terapéuticos utilizados para tratar la leucemia linfocítica crónica (LLC) incluyen clorambucilo, ciclofosfamida, fludarabina, pentostatina, cladribina, doxorubicina, vincristina, prednisona, prednisolona, alemtuzumab, muchos de los agentes
20 enumerados para la WM y quimioterapia de combinación., incluidos los siguientes regímenes de combinación comunes: CVP, R-CVP, ICE, R-ICE, FCR y FR.

Terapia de combinación de mielofibrosis

[00558] Los agentes inhibidores de la mielofibrosis incluyen, pero no se limitan a, inhibidores de hedgehog, inhibidores de histona desacetilasa (HDAC) e inhibidores de tirosina
25 quinasa. Los ejemplos no limitantes de inhibidores de hedgehog son saridegib y vismodegib.

[00559] Los ejemplos de inhibidores de HDAC incluyen, pero no se limitan a, pracinostat y panobinostat.

[00560] Los ejemplos no limitantes de inhibidores de tirosina quinasa son lestaurtinib, bosutinib, imatinib, gilteritinib, radotinib y cabozantinib.

Terapia combinada para el trastorno hiperproliferativo

[00561] Pueden usarse gemcitabina, nab-paclitaxel y gemcitabina / nab-paclitaxel con un inhibidor de CD73 y / o un inhibidor de TGF β para tratar trastornos hiperproliferativos.

Terapia combinada para el cáncer de vejiga

[00562] Los agentes terapéuticos utilizados para tratar el cáncer de vejiga incluyen

atezolizumab, carboplatino, cisplatino, docetaxel, doxorubicina, fluorouracilo (5-FU), gemcitabina, idosfamida, interferón alfa-2b, metotrexato, mitomicina, nab-paclitaxel, paclitaxel, pemetrexed, vinblastina y cualquier combinación de los mismos.

Terapia combinada contra el cáncer de mama

- 5 **[00563]** Los agentes terapéuticos usados para tratar el cáncer de mama incluyen paclitaxel unido a albúmina, anastrozol, capecitabina, carboplatino, cisplatino, ciclofosfamida, docetaxel, doxorubicina, epirubicina, everolimus, exemestano, fluorouracilo, fulvestrant, gemcitabina, letrozolapatinibotilona, metitabina, lapatinibotilona mitoxantrona, paclitaxel, doxorubicina liposomal pegilada, pertuzumab, tamoxifeno, toremifeno, trastuzumab, vinorelbina y cualquier combinación de los mismos.

Terapia combinada triple negativa para el cáncer de mama

[00564] Los agentes terapéuticos usados para tratar el cáncer de mama triple negativo incluyen ciclofosfamida, docetaxel, doxorubicina, epirubicina, fluorouracilo, paclitaxel y combinaciones de los mismos.

- 15 *Terapia combinada para el cáncer colorrectal*

[00565] Los agentes terapéuticos usados para tratar el cáncer colorrectal incluyen bevacizumab, capecitabina, cetuximab, fluorouracilo, irinotecán, leucovorina, oxaliplatino, panitumumab, ziv-aflibercept y cualquier combinación de los mismos.

Terapia combinada de cáncer de próstata resistente a la castración

- 20 **[00566]** Los agentes terapéuticos usados para tratar el cáncer de próstata resistente a la castración incluyen abiraterona, cabazitaxel, docetaxel, enzalutamida, prednisona, sipuleucel-T y cualquier combinación de los mismos.

Tratamiento combinado del cáncer de esófago y unión esofagogástrica

- 25 **[00567]** Los agentes terapéuticos usados para tratar el cáncer de unión esofágica y esofagogástrica incluyen capecitabina, carboplatino, cisplatino, docetaxel, epirubicina, fluoropirimidina, fluorouracilo, irinotecán, leucovorina, oxaliplatino, paclitaxel, ramucirumab, trastuzumab y cualquier combinación de los mismos.

Terapia combinada de cáncer gástrico

- 30 **[00568]** Los agentes terapéuticos usados para tratar el cáncer gástrico incluyen capecitabina, carboplatino, cisplatino, docetaxel, epirubicina, fluoropirimidina, fluorouracilo, irinotecán, leucovorina, mitomicina, oxaliplatino, paclitaxel, ramucirumab, trastuzumab y cualquier combinación de los mismos.

Terapia combinada para el cáncer de cabeza y cuello

[00569] Los agentes terapéuticos usados para tratar el cáncer de cabeza y cuello incluyen

afatinib, bleomicina, capecitabina, carboplatino, cetuximab, cisplatino, docetaxel, fluorouracilo, gemcitabina, hidroxurea, metotrexato, nivolumab, paclitaxel, pembrolizumab, vinorelbina y cualquier combinación de los mismos.

Terapia combinada del cáncer hepatobiliar

- 5 **[00570]** Los agentes terapéuticos usados para tratar el cáncer hepatobiliar incluyen capecitabina, cisplatino, fluoropirimidina, 5-fluorouracilo, gemcitabina, oxaliplatino, sorafenib y cualquier combinación de los mismos.

Terapia combinada de carcinoma hepatocelular

- 10 **[00571]** Los agentes terapéuticos usados para tratar el carcinoma hepatocelular incluyen capecitabina, doxorrubicina, gemcitabina, sorafenib y cualquier combinación de los mismos.

Terapia combinada de cáncer de pulmón de células no pequeñas

- 15 **[00572]** Los agentes terapéuticos utilizados para tratar el cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP) incluyen afatinib, paclitaxel unido a albúmina, alectinib, bevacizumab, bevacizumab, cabozantinib, carboplatino, cisplatino, crizotinib, dabrafenib, docetaxel, erlotinib, etopósido, gemmacitabina, paclitaxel, pembrolizumab, pemetrexed, ramucirumab, trametinib, trastuzumab, vandetanib, vemurafenib, vinblastina, vinorelbina y cualquier combinación de los mismos.

Terapia combinada de cáncer de pulmón de células pequeñas

- 20 **[00573]** Los agentes terapéuticos usados para tratar el cáncer de pulmón microcítico (CPCP) incluyen bendamustina, carboplatino, cisplatino, ciclofosfamida, docetaxel, doxorrubicina, etopósido, gemcitabina, ipilimumab, irinotecán, nivolumab, paclitaxel, temozolomida, topotecán, vinlistina combinaciones de los mismos.

Terapia combinada de melanoma

- 25 **[00574]** Los agentes terapéuticos usados para tratar el cáncer de melanoma incluyen paclitaxel unido a albúmina, carboplatino, cisplatino, cobimetinib, dabrafenib, dacrabazina, IL-2, imatinib, interferón alfa-2b, ipilimumab, nitrosourea, nivolumab, paclitaxel, pembrolidebunab, temozumab, pilimomumab trametinib, vemurafenib, vinblastina y cualquier combinación de los mismos.

Terapia combinada para el cáncer de ovario

- 30 **[00575]** Los agentes terapéuticos usados para tratar el cáncer de ovario incluyen 5-fluorouracilo, paclitaxel unido a albúmina, altretamina, anastrozol, bevacizumab, capecitabina, carboplatino, cisplatino, ciclofosfamida, docetaxel, doxorrubicina, etopósido, exemestaina, iridoslefamida, leuprina, leuprolina, acetato, doxorrubicina liposomal, acetato de megestrol, melfalán, olaparib, oxaliplatino, paclitaxel, pazopanib, pemetrexed, tamoxifeno, topotecán,

vinorelbina y cualquier combinación de los mismos.

Terapia combinada para el cáncer de páncreas

[00576] Los agentes terapéuticos usados para tratar el cáncer de páncreas incluyen 5-fluorouracilo, paclitaxel unido a albúmina, capecitabina, cisplatino, docetaxel, erlotinib, fluoropirimidina, gemcitabina, irinotecán, leucovorina, oxaliplatino, paclitaxel y cualquier combinación de los mismos.

Terapia combinada de carcinoma de células renales

[00577] Los agentes terapéuticos usados para tratar el carcinoma de células renales incluyen axitinib, bevacizumab, cabozantinib, erlotinib, everolimus, levantinib, nivolumab, pazopanib, sorafenib, sunitinib, temsirolimus y cualquier combinación de los mismos.

5.6 Polinucleótidos, vectores y métodos de producción de anticuerpos anti-CD73

[00578] En otro aspecto, se proporcionan en este documento polinucleótidos que comprenden una secuencia de nucleótidos que codifica un anticuerpo descrito en este documento o un fragmento del mismo (por ejemplo, una región variable de cadena ligera y/o una región variable de cadena pesada) que se une específicamente a un CD73 (por ejemplo, humano, antígeno CD73 de ratón o cynomolgus), y vectores, por ejemplo, vectores que comprenden tales polinucleótidos para la expresión recombinante en células hospedadoras (por ejemplo, E. coli y células de mamífero). En el presente documento se proporcionan polinucleótidos que comprenden secuencias de nucleótidos que codifican un polipéptido (p. Ej., Una cadena pesada y/o ligera) de cualquiera de los anticuerpos proporcionados en el presente documento, así como vectores que comprenden dichas secuencias de polinucleótidos, p. Ej., vectores de expresión para su expresión eficaz en células huésped, por ejemplo, células de mamífero.

[00579] Como se usa en este documento, un polinucleótido o molécula de ácido nucleico "aislado" es uno que está separado de otras moléculas de ácido nucleico que están presentes en la fuente natural (por ejemplo, en un ratón o un ser humano) de la molécula de ácido nucleico. Además, una molécula de ácido nucleico "aislada", como una molécula de ADNc, puede estar sustancialmente libre de otro material celular o medio de cultivo cuando se produce mediante técnicas recombinantes, o sustancialmente libre de precursores químicos u otras sustancias químicas cuando se sintetiza químicamente. Por ejemplo, el lenguaje "sustancialmente libre" incluye preparaciones de polinucleótidos o moléculas de ácido nucleico que tienen menos de aproximadamente 15%, 10%, 5%, 2%, 1%, 0,5% o 0,1% (en particular, menos de aproximadamente 10%) de otro material, por ejemplo, material celular, medio de cultivo, otras moléculas de ácido nucleico, precursores químicos y/u otros productos químicos. En una

realización específica, se aísla o purifica una molécula o moléculas de ácido nucleico que codifican un anticuerpo descrito en el presente documento.

- [00580]** En aspectos particulares, en este documento se proporcionan polinucleótidos que comprenden secuencias de nucleótidos que codifican anticuerpos, que se unen específicamente a un polipéptido CD73 (por ejemplo, CD73 humano, de ratón o cinomólogo) y comprenden una secuencia de aminoácidos como se describe en el presente documento, así como anticuerpos que compiten con dichos anticuerpos por la unión a un polipéptido CD73 (p. ej., CD73 humano, de ratón o cynomolgus) (p. ej., de una manera dependiente de la dosis), o que se une al mismo epítipo que el de dichos anticuerpos.
- 10 **[00581]** En ciertos aspectos, en el presente documento se proporcionan polinucleótidos que comprenden una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido (por ejemplo, la cadena ligera o la cadena pesada) de un anticuerpo descrito en el presente documento. Los polinucleótidos pueden comprender secuencias de nucleótidos que codifican una cadena ligera que comprende las VL FR y las CDR de los anticuerpos descritos en este documento (ver, por ejemplo, la Tabla 1) o secuencias de nucleótidos que codifican una cadena pesada que comprende las VH FR y las CDR de los anticuerpos descritos en este documento (ver, por ejemplo, Tabla 1).
- 15 **[00582]** También se proporcionan en el presente documento polinucleótidos que codifican un anticuerpo anti-CD73 (p. Ej., Humano, ratón o cynomolgus CD73) que se optimizan, p. Ej., Mediante optimización de codones/ARN, reemplazo con secuencias señal heterólogas y eliminación de elementos de inestabilidad de ARNm. Métodos para generar ácidos nucleicos optimizados que codifiquen un anticuerpo anti-CD73 (p. Ej., humano, ratón o CD73 cynomolgus) o un fragmento del mismo (p. Ej., cadena ligera, cadena pesada, dominio VH o dominio VL, opcionalmente unido a un resto de unión a ligando) para la expresión recombinante mediante la introducción de cambios de codones y/o la eliminación de regiones inhibidoras en el ARNm se puede llevar a cabo adaptando los métodos de optimización descritos en, por ejemplo, las Patentes de Estados Unidos Nos. 5.965.726; 6,174,666; 6,291,664; 6,414,132; y 6.794.498, todos los cuales se incorporan aquí como referencia en su totalidad. Por ejemplo, los sitios de empalme potenciales y los elementos de inestabilidad (por ejemplo, elementos ricos en A/T o A/U) dentro del ARN se pueden mutar sin alterar los aminoácidos codificados por las secuencias de ácido nucleico para aumentar la estabilidad del ARN para la expresión recombinante. Las alteraciones utilizan la degeneración del código genético, por ejemplo, usando un codón alternativo para un aminoácido idéntico. En ciertas realizaciones, puede ser deseable alterar uno o más codones para codificar una mutación
- 20
- 25
- 30

conservadora, por ejemplo, un aminoácido similar con estructura química y propiedades similares y/o función como el aminoácido original. Dichos métodos pueden aumentar la expresión de un anticuerpo anti-CD73 (p. Ej., CD73 humano, de ratón o cynomolgus) o fragmento del mismo en al menos 1 veces, 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 10 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces o 100 veces o más en relación con la expresión de un anticuerpo anti-CD73 (p. ej., CD73 humano, de ratón o cinomolgo) codificado por polinucleótidos que no se han optimizado.

[00583] En determinadas realizaciones, una secuencia polinucleotídica optimizada que codifica un anticuerpo anti-CD73 (p. Ej., CD73 humano, de ratón o cynomolgus) descrito en este documento o un fragmento del mismo (p. Ej., Dominio VL y/o dominio VH) puede hibridarse a un polinucleótido antisentido (p. ej., complementario) de una secuencia de polinucleótidos no optimizada que codifica un anticuerpo anti-CD73 (p. ej., CD73 humano, de ratón o cynomolgus) descrito en el presente documento o un fragmento del mismo (p. ej., dominio VL y/o dominio VH). En realizaciones específicas, una secuencia de nucleótidos optimizada que codifica un anticuerpo anti-CD73 (p. Ej., CD73 humano, de ratón o cynomolgus) descrito en el presente documento o un fragmento se hibrida en condiciones de alta rigurosidad con un polinucleótido antisentido de una secuencia de polinucleótidos no optimizada que codifica un anti-CD73 (p. Ej. , anticuerpo CD73 humano, de ratón o cynomolgus) descrito en el presente documento o un fragmento del mismo. En una realización específica, una secuencia de nucleótidos optimizada que codifica un anticuerpo anti-CD73 (p. Ej., CD73 humano, de ratón o cynomolgus) descrito en el presente documento o un fragmento del mismo se hibrida en condiciones de hibridación de alta rigurosidad, intermedia o menor rigurosidad con un polinucleótido antisentido de una secuencia de nucleótidos no optimizada que codifica un anticuerpo anti-CD73 (p. ej., CD73 humano, de ratón o de cynomolgus) descrito en el presente documento o un fragmento del mismo. Se ha descrito información con respecto a las condiciones de hibridación, véase, por ejemplo, la publicación de la solicitud de patente de EE.UU. nº US 2005/0048549 (por ejemplo, párrafos 72-73), que se incorpora aquí como referencia en su totalidad.

[00584] Los polinucleótidos pueden obtenerse, y la secuencia de nucleótidos de los polinucleótidos puede determinarse mediante cualquier método conocido en la técnica. Las secuencias de nucleótidos que codifican los anticuerpos descritos en este documento, por ejemplo, los anticuerpos descritos en la Tabla 1, y las versiones modificadas de estos anticuerpos se pueden determinar utilizando métodos bien conocidos en la técnica, es decir, los codones de nucleótidos que se sabe que codifican aminoácidos particulares se ensamblan de

tal manera que generen un ácido nucleico que codifica el anticuerpo. Dicho polinucleótido que codifica el anticuerpo puede ensamblarse a partir de oligonucleótidos sintetizados químicamente (p. Ej., Como se describe en Kutmeier G et al., (1994), BioTechniques 17: 242-6, incorporado aquí como referencia en su totalidad), que, brevemente, implica la síntesis de oligonucleótidos solapantes que contienen porciones de la secuencia que codifica el anticuerpo, hibridación y ligamiento de esos oligonucleótidos, y luego amplificación de los oligonucleótidos ligados por PCR.

[00585] Alternativamente, un polinucleótido que codifica un anticuerpo descrito en este documento puede generarse a partir de ácido nucleico de una fuente adecuada (por ejemplo, un hibridoma) usando métodos bien conocidos en la técnica (por ejemplo, PCR y otros métodos de clonación molecular). Por ejemplo, la amplificación por PCR usando cebadores sintéticos que pueden hibridar con los extremos 3' y 5' de una secuencia conocida se puede realizar usando ADN genómico obtenido de células de hibridoma que producen el anticuerpo de interés. Dichos métodos de amplificación por PCR pueden usarse para obtener ácidos nucleicos que comprenden la secuencia que codifica la cadena ligera y/o la cadena pesada de un anticuerpo. Dichos métodos de amplificación por PCR pueden usarse para obtener ácidos nucleicos que comprenden la secuencia que codifica la región de cadena ligera variable y/o la región de cadena pesada variable de un anticuerpo. Los ácidos nucleicos amplificados se pueden clonar en vectores para expresión en células huésped y para clonación adicional, por ejemplo, para generar anticuerpos quiméricos y humanizados.

[00586] Si un clon que contiene un ácido nucleico que codifica un anticuerpo en particular no está disponible, pero se conoce la secuencia de la molécula del anticuerpo, se puede sintetizar químicamente un ácido nucleico que codifica la inmunoglobulina u obtener de una fuente adecuada (por ejemplo, un cDNA de anticuerpo). biblioteca o una biblioteca de ADNc generada a partir de, o ácido nucleico, preferiblemente poli A + ARN, aislado de cualquier tejido o células que expresen el anticuerpo, como las células de hibridoma seleccionadas para expresar un anticuerpo descrito en este documento) mediante amplificación por PCR utilizando cebadores sintéticos hibridables con los extremos 3' y 5' de la secuencia o mediante clonación usando una sonda de oligonucleótidos específica para la secuencia genética particular para identificar, por ejemplo, un clon de ADNc de una biblioteca de ADNc que codifica el anticuerpo. Los ácidos nucleicos amplificados generados por PCR pueden luego clonarse en vectores de clonación replicables usando cualquier método bien conocido en la técnica.

[00587] El ADN que codifica los anticuerpos anti-CD73 (p. Ej., CD73 humano, de ratón o cynomolgus) descritos en el presente documento puede aislarse y secuenciarse fácilmente

usando procedimientos convencionales (p. Ej., usando sondas de oligonucleótidos que son capaces de unirse específicamente a genes que codifican el pesado y cadenas ligeras de los anticuerpos anti-CD73 (p. ej., CD73 humano, de ratón o de cynomolgus)). Las células de hibridoma pueden servir como fuente de dicho ADN. Una vez aislado, el ADN se puede colocar

5 en vectores de expresión, que luego se transfectan en células huésped como células de E. coli, células COS de simio, células de ovario de hámster chino (CHO) (p. Ej., Células CHO de CHO GS System TM (Lonza)), o células de mieloma que de otro modo no producen proteína inmunoglobulina, para obtener la síntesis de anticuerpos anti-CD73 (p. ej., CD73 humano, de ratón o de cynomolgus) en las células hospedadoras recombinantes.

10 **[00588]** Para generar anticuerpos completos, se pueden usar cebadores de PCR que incluyen secuencias de nucleótidos VH o VL, un sitio de restricción y una secuencia flanqueante para proteger el sitio de restricción para amplificar las secuencias VH o VL en clones scFv. Utilizando técnicas de clonación conocidas por los expertos en la técnica, los dominios VH amplificados por PCR se pueden clonar en vectores que expresan una región

15 constante de cadena pesada, por ejemplo, la región constante gamma 1 humana o gamma 4 humana, y los dominios VL amplificados por PCR pueden ser clonados en vectores que expresan una región constante de cadena ligera, por ejemplo, regiones constantes kappa o lambda humanas. En determinadas realizaciones, los vectores para expresar los dominios VH o VL comprenden un promotor EF-1 α , una señal de secreción, un sitio de clonación para la

20 región variable, dominios constantes y un marcador de selección como neomicina. Los dominios VH y VL también se pueden clonar en un vector que exprese las regiones constantes necesarias. Los vectores de conversión de cadena pesada y los vectores de conversión de cadena ligera se cotransfectan luego en líneas celulares para generar líneas celulares estables o transitorias que expresan anticuerpos de longitud completa, por ejemplo, IgG, usando técnicas

25 conocidas por los expertos en la técnica.

[00589] El ADN también se puede modificar, por ejemplo, sustituyendo la secuencia codificante de los dominios constantes de la cadena pesada y ligera humana en lugar de las secuencias murinas, o uniendo covalentemente a la secuencia codificante de inmunoglobulina toda o parte de la secuencia codificante de un polipéptido que no es inmunoglobulina.

30 **[00590]** También se proporcionan polinucleótidos que se hibridan en condiciones de hibridación de rigurosidad alta, intermedia o menor con polinucleótidos que codifican un anticuerpo descrito en el presente documento. En realizaciones específicas, los polinucleótidos descritos en el presente documento se hibridan en condiciones de hibridación de rigurosidad alta, intermedia o de menor rigurosidad con polinucleótidos que codifican un dominio VH y/o

dominio VL proporcionado en el presente documento.

[00591] Las condiciones de hibridación se han descrito en la técnica y son conocidas por los expertos en la técnica. Por ejemplo, la hibridación en condiciones estrictas puede implicar la hibridación con ADN unido al filtro en 6x cloruro de sodio/citrato de sodio (SSC) a
 5 aproximadamente 45 °C seguido de uno o más lavados en 0,2xSSC/SDS al 0,1% a aproximadamente 50-65 °C; La hibridación en condiciones muy estrictas puede implicar la hibridación con ácido nucleico unido al filtro en 6xSSC a aproximadamente 45 °C seguido de uno o más lavados en 0.1xSSC / 0.2% SDS a aproximadamente 68 °C. La hibridación en otras condiciones de hibridación rigurosas son conocidas por aquellos expertos en la técnica y se han
 10 descrito, véase, por ejemplo, Ausubel FM et al., eds., (1989) Current Protocols in Molecular Biology, vol. I, Green Publishing Associates, Inc. y John Wiley & Sons, Inc., Nueva York en las páginas 6.3.1-6.3.6 y 2.10.3, que se incorpora aquí como referencia en su totalidad.

[00592] En ciertos aspectos, se proporcionan aquí células (por ejemplo, células huésped) que expresan (por ejemplo, de forma recombinante) anticuerpos descritos en el presente
 15 documento que se unen específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, de ratón o cynomolgus) y polinucleótidos y vectores de expresión relacionados. En el presente documento se proporcionan vectores (p. Ej., vectores de expresión) que comprenden polinucleótidos que comprenden secuencias de nucleótidos que codifican anticuerpos anti-CD73 (p. Ej., CD73 humano, de ratón o cinomolgo) o un fragmento para expresión recombinante en células
 20 huésped, preferiblemente en células de mamífero (p. Ej., Células CHO). También se proporcionan en el presente documento células hospedadoras que comprenden dichos vectores para expresar de manera recombinante anticuerpos anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, de ratón o cynomolgus) descritos en este documento (por ejemplo, anticuerpo humano o humanizado). En un aspecto particular, aquí se proporcionan métodos para producir un
 25 anticuerpo descrito aquí, que comprenden expresar dicho anticuerpo a partir de una célula huésped.

[00593] Expresión recombinante de un anticuerpo descrito en este documento (por ejemplo, un anticuerpo de longitud completa, cadena pesada y/o ligera de un anticuerpo, o un anticuerpo de cadena simple que comprende opcionalmente un resto de unión a ligando descrito
 30 en este documento) que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, ratón o cynomolgus) generalmente implica la construcción de un vector de expresión que contiene un polinucleótido que codifica el anticuerpo. Una vez que se ha obtenido un polinucleótido que codifica un anticuerpo, un polipéptido (p. Ej., cadena pesada y/o ligera) de un anticuerpo, o un fragmento del mismo (p. Ej., Regiones variables de cadena pesada y/o ligera) descritos en el

presente documento, el vector para la producción del anticuerpo se puede producir mediante tecnología de ADN recombinante usando técnicas bien conocidas en la técnica. Por tanto, los métodos para preparar una proteína expresando un polinucleótido que contiene un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (por ejemplo, cadena ligera o cadena pesada) que codifica la secuencia de nucleótidos se describen en el presente documento. Los métodos que son bien conocidos por los expertos en la técnica pueden usarse para construir vectores de expresión que contienen secuencias codificantes de anticuerpos o fragmentos de anticuerpos (por ejemplo, cadena ligera o cadena pesada) y señales de control de la transcripción y traducción apropiadas. Estos métodos incluyen, por ejemplo, técnicas de ADN recombinante in vitro, técnicas sintéticas y recombinación genética in vivo. También se proporcionan vectores replicables que comprenden una secuencia de nucleótidos que codifica un anticuerpo descrito en el presente documento, un polipéptido (por ejemplo, cadena pesada o ligera) de un anticuerpo, una región variable de cadena pesada o ligera de un anticuerpo o un fragmento del mismo, o una cadena ligera o pesada. CDR, operativamente unida a un promotor. Dichos vectores pueden incluir, por ejemplo, la secuencia de nucleótidos que codifica la región constante de la molécula de anticuerpo (véanse, por ejemplo, las publicaciones internacionales números WO 86/05807 y WO 89/01036; y la patente estadounidense número 5,122,464, que se incorporan en este documento por referencia en su totalidad) y las regiones variables del anticuerpo pueden clonarse en dicho vector para la expresión de un polipéptido completo (por ejemplo, la cadena pesada completa o la cadena ligera completa), o tanto la cadena pesada como la ligera completa.

[00594] Se puede transferir un vector de expresión a una célula (por ejemplo, célula huésped) mediante técnicas convencionales y las células resultantes se pueden cultivar luego mediante técnicas convencionales para producir un anticuerpo descrito en el presente documento o un fragmento del mismo. Por lo tanto, en el presente documento se proporcionan células hospedadoras que contienen un polinucleótido que codifica un anticuerpo descrito en el presente documento o fragmentos del mismo, o una cadena pesada o ligera del mismo, o un fragmento del mismo, o un anticuerpo monocatenario descrito en este documento, unido operativamente a un promotor para la expresión de tales secuencias en la célula huésped. En determinadas realizaciones, para la expresión de anticuerpos de doble cadena, los vectores que codifican tanto la cadena pesada como la ligera individualmente, pueden coexpresarse en la célula huésped para la expresión de la molécula de inmunoglobulina completa, como se detalla a continuación. En determinadas realizaciones, una célula huésped contiene un vector que comprende un polinucleótido que codifica tanto la cadena pesada como la cadena ligera de un

anticuerpo descrito en el presente documento, o un fragmento del mismo. En realizaciones específicas, una célula huésped contiene dos vectores diferentes, un primer vector que comprende un polinucleótido que codifica una cadena pesada o una región variable de cadena pesada de un anticuerpo descrito en este documento, o un fragmento del mismo, y un segundo

5 vector que comprende un polinucleótido que codifica una cadena ligera. o una región variable de cadena ligera de un anticuerpo descrito en este documento, o un fragmento del mismo. En otras realizaciones, una primera célula huésped comprende un primer vector que comprende un polinucleótido que codifica una cadena pesada o una región variable de cadena pesada de un anticuerpo descrito en este documento, o un fragmento del mismo, y una segunda célula

10 huésped comprende un segundo vector que comprende un polinucleótido que codifica un cadena ligera o una región variable de cadena ligera de un anticuerpo descrito en este documento. En realizaciones específicas, se describe una región variable de cadena pesada/cadena pesada expresada por una primera célula asociada con una región variable de cadena ligera/cadena ligera de una segunda célula para formar un anticuerpo anti-CD73 (por

15 ejemplo, CD73 humano, de ratón o de cynomolgus). En determinadas realizaciones, se proporciona en el presente documento una población de células huésped que comprende dicha primera célula huésped y dicha segunda célula huésped.

[00595] En una realización particular, se proporciona en este documento una población de vectores que comprende un primer vector que comprende un polinucleótido que codifica una

20 región variable de cadena ligera/cadena ligera de un anticuerpo anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, de ratón o cynomolgus) descrito en el presente documento, y un segundo vector que comprende un polinucleótido que codifica una región variable de cadena pesada/cadena pesada de un anticuerpo anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, de ratón o de cynomolgus) descrito en el presente documento.

[00596] Se puede utilizar una variedad de sistemas de vector de expresión huésped para expresar el anticuerpo descrito en el presente documento (véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. N° 5.807.715, que se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad). Dichos sistemas de expresión del huésped representan vehículos mediante los cuales las secuencias codificantes de interés pueden producirse y posteriormente purificarse, pero

30 también representan células que pueden, cuando se transforman o transfectan con las secuencias codificantes de nucleótidos apropiadas, expresar una molécula de anticuerpo descrita en este documento *in situ*. Estos incluyen, pero no se limitan a, microorganismos tales como bacterias (por ejemplo, E. coli y B. subtilis) transformadas, por ejemplo, con vectores de expresión de ADN de bacteriófago recombinante, ADN de plásmido o ADN de cósmido que

contienen secuencias codificantes de anticuerpos; levadura (por ejemplo, *Saccharomyces Pichia*) transformada con, por ejemplo, vectores de expresión de levadura recombinantes que contienen secuencias codificantes de anticuerpos; sistemas de células de insectos infectados, por ejemplo, con vectores de expresión de virus recombinantes (por ejemplo, baculovirus) que

5 contienen secuencias codificantes de anticuerpos; sistemas de células vegetales (p. ej., algas verdes como *Chlamydomonas reinhardtii*) infectadas con, p. ej., vectores de expresión de virus recombinantes (p. ej., virus del mosaico de la coliflor, CaMV; virus del mosaico del tabaco, TMV) o transformados, p. ej., con vectores de expresión de plásmidos recombinantes (p. ej., Plásmido Ti) que contiene secuencias codificantes de anticuerpos; o sistemas de células de

10 mamíferos (por ejemplo, COS (por ejemplo, COS1 o COS), CHO, BHK, MDCK, HEK-293, NS0, PER.C6, VERO, CRL7O3O, HsS78Bst, HeLa y NIH 3T3, HEK-293T, HepG2, Células SP210, R1.1, BW, LM, BSC1, BSC40, YB/20 y BMT10) que albergan, por ejemplo, construcciones de expresión recombinantes que contienen promotores derivados del genoma de células de mamíferos (por ejemplo, promotor de metalotioneína) o de virus de mamíferos

15 (por ejemplo, el promotor tardío de adenovirus; el promotor de virus vaccinia 7.5K). En una realización específica, las células para expresar anticuerpos descritas en el presente documento son células de ovario de hámster chino (CHO), por ejemplo, células CHO del CHO GS System™ (Lonza). En ciertas realizaciones, un polipéptido (por ejemplo, la cadena pesada y/o cadena ligera) de un anticuerpo producido por una célula CHO puede tener un residuo de glutamina o

20 glutamato N-terminal reemplazado por piroglutamato. En una realización particular, las células para expresar anticuerpos descritas en este documento son células humanas, por ejemplo, líneas celulares humanas. En una realización específica, un vector de expresión de mamífero es pOptiVEC™ o pcDNA3.3. En una realización particular, se usan células bacterianas tales como *Escherichia coli*, o células eucariotas (por ejemplo, células de mamífero), especialmente

25 para la expresión de anticuerpos recombinantes completos, para la expresión de un anticuerpo recombinante. Por ejemplo, las células de mamíferos como las células CHO, junto con un vector como el elemento promotor del gen temprano intermedio principal del citomegalovirus humano es un sistema de expresión eficaz para los anticuerpos (Foecking MK & Hofstetter H (1986) *Gene* 45: 101-5; y Cockett MI et al., (1990) *Biotechnology* 8 (7): 662-7, cada uno de

30 los cuales se incorpora aquí como referencia en su totalidad). En determinadas realizaciones, los anticuerpos descritos en este documento son producidos por células CHO o células NS0. En una realización específica, la expresión de secuencias de nucleótidos que codifican anticuerpos descritos en el presente documento que se unen específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, de ratón o de cinomolgo) está regulada por un promotor constitutivo,

un promotor inducible o un promotor específico de tejido.

[00597] En sistemas bacterianos, se pueden seleccionar ventajosamente varios vectores de expresión dependiendo del uso previsto para el anticuerpo que se expresa. Por ejemplo, cuando se va a producir una gran cantidad de dicho anticuerpo, para la generación de composiciones farmacéuticas de un anticuerpo, pueden ser deseables los vectores que dirijan la expresión de altos niveles de productos de proteína de fusión que se purifiquen fácilmente. Dichos vectores incluyen, pero no se limitan a, el vector de expresión de *E. coli* pUR278 (Ruether U & Mueller-Hill B (1983) EMBO J 2: 1791-1794), en el que la secuencia codificante del anticuerpo puede ligarse individualmente en el vector. en marco con la región codificante de lac Z de modo que se produzca una proteína de fusión; vectores pIN (Inouye S & Inouye M (1985) Nuc Acids Res 13: 3101-3109; Van Heeke G & Schuster SM (1989) J Biol Chem 24: 5503-5509); y similares, todos los cuales se incorporan aquí como referencia en su totalidad. Por ejemplo, los vectores pGEX también se pueden utilizar para expresar polipéptidos extraños como proteínas de fusión con glutatión 5-transferasa (GST). En general, tales proteínas de fusión son solubles y pueden purificarse fácilmente a partir de células lisadas mediante adsorción y unión a perlas de agarosa de glutatión de matriz seguido de elución en presencia de glutatión libre. Los vectores pGEX están diseñados para incluir sitios de escisión de proteasa de factor Xa o trombina, de modo que el producto del gen diana clonado pueda liberarse del resto GST.

[00598] En un sistema de insectos, el virus de la polihedrosis nuclear de *Autographa californica* (AcNPV), por ejemplo, se puede usar como vector para expresar genes extraños. El virus crece en células de *Spodoptera frugiperda*. La secuencia de codificación del anticuerpo puede clonarse individualmente en regiones no esenciales (por ejemplo, el gen de la polihedrina) del virus y colocarse bajo el control de un promotor de AcNPV (por ejemplo, el promotor de polihedrina).

[00599] En células hospedadoras de mamíferos, se pueden utilizar varios sistemas de expresión basados en virus. En los casos en los que se usa un adenovirus como vector de expresión, la secuencia de codificación del anticuerpo de interés se puede ligar a un complejo de control de la transcripción/traducción de adenovirus, por ejemplo, el promotor tardío y la secuencia líder tripartita. Este gen quimérico puede insertarse luego en el genoma del adenovirus mediante recombinación *in vitro* o *in vivo*. La inserción en una región no esencial del genoma viral (p. Ej., Región E1 o E3) dará como resultado un virus recombinante que es viable y capaz de expresar el anticuerpo en huéspedes infectados (p. Ej., Véase Logan J & Shenk T (1984) PNAS 81 (12): 3655-9, que se incorpora aquí como referencia en su totalidad). También pueden requerirse señales de iniciación específicas para la traducción eficaz de

secuencias codificantes de anticuerpos insertadas. Estas señales incluyen el codón de iniciación ATG y secuencias adyacentes. Además, el codón de iniciación debe estar en fase con el marco de lectura de la secuencia codificante deseada para asegurar la traducción del inserto completo. Estas señales de control de traducción exógenas y codones de iniciación pueden tener una

5 variedad de orígenes, tanto naturales como sintéticos. La eficiencia de la expresión se puede mejorar mediante la inclusión de elementos potenciadores de la transcripción, terminadores de la transcripción, etc. apropiados (véase, por ejemplo, Bitter G et al., (1987) *Methods Enzymol.* 153: 516-544, que se incorpora aquí como referencia en su totalidad).

[00600] Además, se puede elegir una cepa de célula huésped que modula la expresión de las secuencias insertadas, o modifica y procesa el producto génico de la forma específica deseada. Tales modificaciones (por ejemplo, glicosilación) y procesamiento (por ejemplo, escisión) de productos proteicos pueden ser importantes para la función de la proteína. Las diferentes células huésped tienen mecanismos característicos y específicos para el procesamiento y modificación postraduccionales de proteínas y productos génicos. Se pueden

10 elegir líneas celulares o sistemas hospedadores apropiados para asegurar la modificación y el procesamiento correctos de la proteína extraña expresada. Con este fin, pueden usarse células huésped eucariotas que poseen la maquinaria celular para el procesamiento adecuado del transcrito primario, glicosilación y fosforilación del producto génico. Tales células huésped de mamíferos incluyen, pero no se limitan a, CHO, VERO, BHK, Hela, MDCK, HEK-293, NIH

15 3T3, W138, BT483, Hs578T, HTB2, BT2O y T47D, NS0 (una línea celular de mieloma murino que no endógenamente producir cualquier cadena de inmunoglobulina), CRL703O, COS (por ejemplo, COS1 o COS), PER.C6, VERO, HsS78Bst, HEK-293T, HepG2, SP210, R1.1, BW, LM, BSC1, BSC40, YB/20, BMT10 y células HsS78Bst. En determinadas realizaciones, los anticuerpos anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, de ratón o de cynomolgus) descritos en

20 el presente documento se producen en células de mamífero, tales como células CHO.

[00601] En una realización específica, los anticuerpos descritos en este documento tienen un contenido de fucosa reducido o ningún contenido de fucosa. Dichos anticuerpos pueden producirse usando técnicas conocidas por los expertos en la técnica. Por ejemplo, los anticuerpos pueden expresarse en células deficientes o que carecen de la capacidad de fucosilar.

30 En un ejemplo específico, se pueden usar líneas celulares con un knockout de ambos alelos de α 1,6-fucosiltransferasa para producir anticuerpos con contenido reducido de fucosa. El sistema Potelligent® (Lonza) es un ejemplo de tal sistema que se puede utilizar para producir anticuerpos con contenido reducido de fucosa.

[00602] Para la producción de alto rendimiento a largo plazo de proteínas recombinantes,

se pueden generar células de expresión estable. Por ejemplo, las líneas celulares que expresan de manera estable un anticuerpo anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, de ratón o cynomolgus) descritas en el presente documento pueden modificarse por ingeniería genética. En realizaciones específicas, una célula proporcionada en este documento expresa de manera estable una región variable de cadena ligera/cadena ligera y una región variable de cadena pesada/cadena pesada que se asocian para formar un anticuerpo descrito en este documento, opcionalmente en el que al menos una de las regiones variables de cadena ligera/cadena ligera y la región variable de cadena pesada/cadena pesada está unida a un resto de unión a ligando.

[00603] En ciertos aspectos, en lugar de usar vectores de expresión que contienen orígenes virales de replicación, las células hospedadoras pueden transformarse con ADN controlado por elementos de control de expresión apropiados (por ejemplo, promotor, potenciador, secuencias, terminadores de la transcripción, sitios de poliadenilación, etc.) y un marcador seleccionable. Después de la introducción del ADN/polinucleótido extraño, se puede dejar que las células manipuladas crezcan durante 1-2 días en un medio enriquecido y luego se cambian a un medio selectivo. El marcador seleccionable en el plásmido recombinante confiere resistencia a la selección y permite que las células integren de manera estable el plásmido en sus cromosomas y crezcan para formar focos que, a su vez, pueden clonarse y expandirse en líneas celulares. Este método puede usarse ventajosamente para diseñar líneas celulares que expresan un anticuerpo anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, de ratón o de cinomolgo) descrito en el presente documento o un fragmento del mismo. Tales líneas celulares modificadas por ingeniería genética pueden ser particularmente útiles en la selección y evaluación de composiciones que interactúan directa o indirectamente con la molécula de anticuerpo.

[00604] Se pueden usar varios sistemas de selección, que incluyen, entre otros, la timidina quinasa del virus del herpes simple (Wigler M et al., (1977) Cell 11 (1): 223-32), hipoxantineguanina fosforribosiltransferasa (Szybalska EH & Szybalski W (1962) PNAS 48 (12): 2026-2034) y genes de adenina fosforribosiltransferasa (Lowy I et al., (1980) Cell 22 (3): 817-23) en células tk, hgprt o aprt, respectivamente, todos los cuales se incorporan aquí como referencia en su totalidad. Además, la resistencia a los antimetabolitos se puede utilizar como base de selección para los siguientes genes: dhfr, que confiere resistencia al metotrexato (Wigler M et al., (1980) PNAS 77 (6): 3567-70; O'Hare K et al., (1981) PNAS 78: 1527-31); gpt, que confiere resistencia al ácido micofenólico (Mulligan RC y Berg P (1981) PNAS 78 (4): 2072-6); neo, que confiere resistencia al aminoglucósido G-418 (Wu GY & Wu CH (1991) Biotherapy 3: 87-95; Tolstoshev P (1993) Ann Rev Pharmacol Toxicol 32: 573-596; Mulligan RC (1993) Science 260: 926-932; y Morgan RA y Anderson WF (1993) Ann Rev Biochem 62:

191-217; Nabel GJ y Felgner PL (1993) Trends Biotechnol 11 (5): 211-5); e hygro, que confiere resistencia a la higromicina (Santerre RF et al., (1984) Gene 30 (1-3): 147-56), todos los cuales se incorporan aquí como referencia en su totalidad. Los métodos comúnmente conocidos en la técnica de la tecnología de ADN recombinante se pueden aplicar de forma rutinaria para seleccionar el clon recombinante deseado y tales métodos se describen, por ejemplo, en Ausubel FM et al., (Eds.), Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Nueva York (1993); Kriegler M, Transferencia y expresión de genes, Manual de laboratorio, Stockton Press, NY (1990); y en los Capítulos 12 y 13, Dracopoli NC y col., (eds.), Current Protocols in Human Genetics, John Wiley & Sons, NY (1994); Colbère-Garapin F y col., (1981) J Mol Biol 150: 1-14, todos los cuales se incorporan aquí como referencia en su totalidad.

[00605] Los niveles de expresión de un anticuerpo pueden aumentarse mediante amplificación de vector (para una revisión, véase Bebbington CR & Hentschel CCG, El uso de vectores basados en amplificación de genes para la expresión de genes clonados en células de mamífero en la clonación de ADN, vol. 3, (Academic Press, Nueva York, 1987), que se incorpora aquí como referencia en su totalidad). Cuando un marcador en el sistema de vector que expresa el anticuerpo es amplificable, el aumento del nivel de inhibidor presente en el cultivo de la célula huésped aumentará el número de copias del gen marcador. Dado que la región amplificada está asociada con el gen del anticuerpo, la producción del anticuerpo también aumentará (Crouse GF et al., (1983) Mol Cell Biol 3: 257-66, que se incorpora aquí como referencia en su totalidad).

[00606] La célula huésped puede cotransfectarse con dos o más vectores de expresión descritos en el presente documento, codificando el primer vector un polipéptido derivado de cadena pesada y el segundo vector codificando un polipéptido derivado de cadena ligera. Los dos vectores pueden contener marcadores seleccionables idénticos que permiten una expresión igual de polipéptidos derivados de cadenas pesadas y ligeras. Las células huésped se pueden cotransfectar con diferentes cantidades de los dos o más vectores de expresión. Por ejemplo, las células huésped se pueden transfectar con cualquiera de las siguientes proporciones de un primer vector de expresión y un segundo vector de expresión: aproximadamente 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:9, 1:10, 1:12, 1:15, 1:20, 1:25, 1:30, 1:35, 1:40, 1:45, o 1:50.

[00607] Alternativamente, se puede usar un solo vector que codifica, y es capaz de expresar, polipéptidos de cadena pesada y ligera. En tales situaciones, la cadena ligera debe colocarse antes de la cadena pesada para evitar un exceso de cadena pesada libre tóxica (Proudfoot NJ (1986) Nature 322: 562-565; y Köhler G (1980) PNAS 77: 2197-2199, cada uno de los cuales

- se incorpora aquí como referencia en su totalidad). Las secuencias codificantes de las cadenas pesada y ligera pueden comprender ADNc o ADN genómico. El vector de expresión puede ser monocistrónico o multicistrónico. Una construcción de ácido nucleico multicistrónico puede codificar 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más genes/secuencias de nucleótidos, o en el rango de 2-5, 5-10 o 10-20 genes/secuencias de nucleótidos. Por ejemplo, una construcción de ácido nucleico bicistrónico puede comprender, en el siguiente orden, un promotor, un primer gen (por ejemplo, la cadena pesada de un anticuerpo opcionalmente unido a un resto de unión de ligando como se describe en este documento) y un segundo gen y (por ejemplo, cadena ligera de un anticuerpo opcionalmente unido a un resto de unión a ligando como se describe en el presente documento).
- En un vector de expresión de este tipo, la transcripción de ambos genes puede ser impulsada por el promotor, mientras que la traducción del ARNm del primer gen puede realizarse mediante un mecanismo de escaneo dependiente de cap y la traducción del ARNm del segundo gen puede realizarse mediante un mecanismo independiente de la tapa, por ejemplo, mediante un IRES.
- [00608]** Una vez que se ha producido un anticuerpo descrito en el presente documento mediante expresión recombinante, puede purificarse mediante cualquier método conocido en la técnica para la purificación de una molécula de inmunoglobulina, por ejemplo, mediante cromatografía (por ejemplo, intercambio iónico, afinidad, particularmente por afinidad por el antígeno específico después de Proteína A, y cromatografía en columna de encolado), centrifugación, solubilidad diferencial o por cualquier otra técnica estándar para la purificación de proteínas. Además, los anticuerpos descritos en el presente documento pueden fusionarse con secuencias polipeptídicas heterólogas descritas en el presente documento o conocidas de otro modo en la técnica para facilitar la purificación.
- [00609]** En realizaciones específicas, un anticuerpo descrito en este documento se aísla o purifica. Generalmente, un anticuerpo aislado es uno que está sustancialmente libre de otros anticuerpos con diferentes especificidades antigénicas que el anticuerpo aislado. Por ejemplo, en una realización particular, una preparación de un anticuerpo descrito en este documento está sustancialmente libre de material celular y/o precursores químicos. El lenguaje "sustancialmente libre de material celular" incluye preparaciones de un anticuerpo en el que el anticuerpo se separa de los componentes celulares de las células de las que se aísla o produce de forma recombinante. Por tanto, un anticuerpo que está sustancialmente libre de material celular incluye preparaciones de anticuerpo que tienen menos de aproximadamente 30%, 20%, 10%, 5%, 2%, 1%, 0,5% o 0,1% (en peso seco) de proteína heteróloga (también denominada en el presente documento "proteína contaminante") y/o variantes de un anticuerpo, por

ejemplo, diferentes formas modificadas postraduccionales de un anticuerpo u otras versiones diferentes de un anticuerpo (por ejemplo, fragmentos de anticuerpo). Cuando el anticuerpo se produce de forma recombinante, generalmente también está sustancialmente libre de medio de cultivo, es decir, el medio de cultivo representa menos de aproximadamente el 20%, 10%, 2%, 1%, 0,5% o 0,1% del volumen de la preparación de proteína. Cuando el anticuerpo se produce por síntesis química, generalmente está sustancialmente libre de precursores químicos u otras sustancias químicas, es decir, está separado de precursores químicos u otras sustancias químicas que participan en la síntesis de la proteína. Por consiguiente, tales preparaciones del anticuerpo tienen menos de aproximadamente 30%, 20%, 10% o 5% (en peso seco) de precursores químicos o compuestos distintos del anticuerpo de interés. En una realización específica, los anticuerpos descritos en el presente documento se aíslan o purifican.

[00610] Los anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, de ratón o de cynomolgus) se pueden producir mediante cualquier método conocido en la técnica para la síntesis de anticuerpos, por ejemplo, mediante síntesis química o mediante técnicas de expresión recombinante. Los métodos descritos en este documento emplean, a menos que se indique lo contrario, técnicas convencionales en biología molecular, microbiología, análisis genético, ADN recombinante, química orgánica, bioquímica, PCR, síntesis y modificación de oligonucleótidos, hibridación de ácidos nucleicos y campos relacionados dentro del conocimiento de la técnica. Estas técnicas se describen, por ejemplo, en las referencias aquí citadas y se explican completamente en la literatura. Ver, por ejemplo, Maniatis T *et al.*, (1982) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Sambrook J *et al.*, (1989), *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Sambrook J *et al.*, (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Ausubel FM *et al.*, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons (1987 y actualizaciones anuales); *Current Protocols in Immunology*, John Wiley & Sons (1987 y actualizaciones anuales) Gait (ed.) (1984) *Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach*, IRL Press; Eckstein (ed.) (1991) *Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach*, IRL Press; Birren B *et al.*, (eds.) (1999) *Genome Analysis: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, todos los cuales se incorporan aquí como referencia en su totalidad.

[00611] En una realización específica, un anticuerpo descrito en este documento es un anticuerpo (por ejemplo, anticuerpo recombinante) preparado, expresado, creado o aislado por cualquier medio que implique la creación, por ejemplo, mediante síntesis, ingeniería genética de secuencias de ADN. En ciertas realizaciones, dicho anticuerpo comprende secuencias (por

ejemplo, secuencias de ADN o secuencias de aminoácidos) que no existen de forma natural dentro del repertorio de la línea germinal del anticuerpo de un animal o mamífero (por ejemplo, un ser humano) *in vivo*.

[00612] En un aspecto, se proporciona en este documento un método para preparar un anticuerpo que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, de ratón o de cynomolgus) que comprende cultivar una célula o célula huésped descrita en este documento. En una realización, el método se realiza *in vitro*. En un cierto aspecto, se proporciona en este documento un método para preparar un anticuerpo que se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, de ratón o de cynomolgus) que comprende expresar (por ejemplo, expresar de forma recombinante) el anticuerpo usando una célula o célula huésped descrita en este documento (por ejemplo, una célula o una célula huésped que comprende polinucleótidos que codifican un anticuerpo descrito en el presente documento). En una realización particular, la célula es una célula aislada. En una realización particular, los polinucleótidos exógenos se han introducido en la célula. En una realización particular, el método comprende además la etapa de purificar el anticuerpo obtenido de la célula o célula huésped.

[00613] Los métodos para producir anticuerpos policlonales son conocidos en la técnica (ver, por ejemplo, Capítulo 11 en: Short Protocols in Molecular Biology, (2002) 5th Ed., Ausubel FM *et al.*, eds., John Wiley and Sons, New York, el cual se incorpora en este documento como referencia en su totalidad).

[00614] Los anticuerpos monoclonales se pueden preparar usando una amplia variedad de técnicas conocidas en la técnica, incluyendo el uso de tecnologías de hibridomas, recombinantes y presentación de fagos, o una combinación de las mismas. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales pueden producirse usando técnicas de hibridoma, incluyendo las conocidas en la técnica y enseñadas, por ejemplo, en Harlow E & Lane D, Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988); Hammerling GJ *et al.*, en: Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563 681 (Elsevier, N.Y., 1981), cada uno de los cuales se incorpora aquí como referencia en su totalidad. El término "anticuerpo monoclonal" como se usa en este documento no se limita a anticuerpos producidos mediante tecnología de hibridomas. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales se pueden producir de forma recombinante a partir de células huésped que expresan exógenamente un polipéptido de un anticuerpo descrito en el presente documento o un fragmento del mismo, por ejemplo, la cadena ligera y/o cadena pesada de tal anticuerpo.

[00615] En realizaciones específicas, un "anticuerpo monoclonal", como se usa en este documento, es un anticuerpo producido por una sola célula (por ejemplo, un hibridoma o célula

huésped que produce un anticuerpo recombinante), en el que el anticuerpo se une específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, de ratón, o de cynomolgus) según se determina, por ejemplo, mediante ELISA u otro ensayo de unión a antígeno o de unión competitiva conocido en la técnica o en los ejemplos proporcionados en este documento. En realizaciones particulares, un anticuerpo monoclonal puede ser un anticuerpo quimérico o un anticuerpo humanizado. En determinadas realizaciones, un anticuerpo monoclonal es un anticuerpo monovalente o un anticuerpo multivalente (por ejemplo, bivalente). En realizaciones particulares, un anticuerpo monoclonal es un anticuerpo monoespecífico o multiespecífico (por ejemplo, un anticuerpo biespecífico). Los anticuerpos monoclonales descritos en este documento se pueden preparar, por ejemplo, mediante el método de hibridoma como se describe en Kohler G & Milstein C (1975) *Nature* 256: 495, que se incorpora aquí como referencia en su totalidad, o puede, por ejemplo, aislarse de bibliotecas de fagos usando las técnicas descritas en este documento, por ejemplo. Otros métodos para la preparación de líneas celulares clonales y de anticuerpos monoclonales expresados de ese modo son bien conocidos en la técnica (ver, por ejemplo, Capítulo 11 en: *Short Protocols in Molecular Biology*, (2002) 5th Ed., Ausubel FM *et al.*, *supra*).

[00616] Como se usa en este documento, un anticuerpo se une a un antígeno de forma multivalente (por ejemplo, bivalente) cuando el anticuerpo comprende al menos dos (por ejemplo, dos o más) dominios de unión monovalentes, cada dominio de unión monovalente capaz de unirse a un epítipo en el antígeno. Cada dominio de unión monovalente puede unirse al mismo o a diferentes epítopos del antígeno.

[00617] Los métodos para producir y rastrear anticuerpos específicos usando tecnología de hibridomas son rutinarios y bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, en el método del hibridoma, un ratón u otro animal huésped apropiado, como una oveja, cabra, conejo, rata, hámster o mono macaco, se inmuniza para provocar linfocitos que producen o son capaces de producir anticuerpos que se unirán específicamente a la proteína (por ejemplo, CD73 (por ejemplo, CD73 humano, de ratón o de cynomolgus)) utilizada para la inmunización. Alternativamente, los linfocitos pueden inmunizarse *in vitro*. Luego, los linfocitos se fusionan con células de mieloma usando un agente de fusión adecuado, como polietilenglicol, para formar una célula de hibridoma (Goding JW (Ed), *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, pp. 59-103 (Academic Press, 1986), incorporado aquí como referencia en su totalidad). Además, se puede utilizar una técnica RIMMS (inmunización repetitiva en múltiples sitios) para inmunizar a un animal (Kilpatrick KE *et al.*, (1997) *Hybridoma* 16:381-9, incorporado aquí como referencia en su totalidad).

[00618] En determinadas realizaciones, los ratones (u otros animales, como ratas, monos, burros, cerdos, ovejas, hámsteres o perros) pueden inmunizarse con un antígeno (por ejemplo, CD73 (por ejemplo, CD73 humano, de ratón o de cynomolgus)) y una vez que se detecta una respuesta inmune, por ejemplo, se detectan anticuerpos específicos para el antígeno en el suero del ratón, se recolecta el bazo del ratón y se aíslan los esplenocitos. Luego, los esplenocitos se fusionan mediante técnicas bien conocidas a cualquier célula de mieloma adecuada, por ejemplo, células de la línea celular SP20 disponibles en la American Type Culture Collection (ATCC®) (Manassas, VA), para formar hibridomas. Los hibridomas se seleccionan y se clonan mediante dilución limitada. En ciertas realizaciones, los ganglios linfáticos de los ratones inmunizados se recolectan y fusionan con células de mieloma NS0.

[00619] Las células de hibridoma así preparadas se siembran y crecen en un medio de cultivo adecuado que preferiblemente contiene una o más sustancias que inhiben el crecimiento o la supervivencia de las células de mieloma parentales no fusionadas. Por ejemplo, si las células de mieloma parentales carecen de la enzima hipoxantina guanina fosforribosil transferasa (HGPRT o HPRT), el medio de cultivo para los hibridomas típicamente incluirá hipoxantina, aminopterina y timidina (medio HAT), sustancias que impiden el crecimiento de células deficientes en HGPRT.

[00620] Realizaciones específicas emplean células de mieloma que se fusionan eficazmente, soportan una producción estable de alto nivel de anticuerpo por las células productoras de anticuerpos seleccionadas y son sensibles a un medio como el medio HAT. Entre estas líneas celulares de mieloma se encuentran las líneas de mieloma murino, como la línea celular NS0 o las derivadas de tumores de ratón MOPC-21 y MPC-11 disponibles en el Salk Institute Cell Distribution Center, San Diego, CA, USA y las células SP-2 o X63-Ag8.653 disponibles del Type Culture Collection, Rockville, MD, USA. También se han descrito líneas celulares de mieloma humano y de heteromieloma de ratón-humano para la producción de anticuerpos monoclonales humanos (Kozbor D (1984) J Immunol 133: 3001-5; Brodeur *et al.*, Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987), cada uno de los cuales se incorpora aquí como referencia en su totalidad).

[00621] Se analiza el medio de cultivo en el que crecen las células de hibridoma para determinar la producción de anticuerpos monoclonales dirigidos contra CD73 (por ejemplo, CD73 humano, de ratón o de cynomolgus). La especificidad de unión de los anticuerpos monoclonales producidos por células de hibridoma se determina mediante métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, inmunoprecipitación o mediante un ensayo de unión *in vitro*, como

radioinmunoensayo (RIA) o ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA).

[00622] Después de que se identifican las células de hibridoma que producen anticuerpos de la especificidad, afinidad y/o actividad deseadas, los clones pueden subclonarse mediante procedimientos de dilución limitantes y cultivarse mediante métodos estándar (Goding JW (Ed), *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, *supra*). Los medios de cultivo adecuados para este propósito incluyen, por ejemplo, medio D-MEM o RPMI 1640. Además, las células de hibridoma pueden cultivarse *in vivo* como tumores ascíticos en un animal.

[00623] Los anticuerpos monoclonales secretados por los subclones se separan adecuadamente del medio de cultivo, líquido ascítico o suero mediante procedimientos convencionales de purificación de inmunoglobulinas tales como, por ejemplo, proteína A-Sefarosa, cromatografía con hidroxilapatita, electroforesis en gel, diálisis o cromatografía de afinidad.

[00624] Los anticuerpos descritos en el presente documento incluyen, por ejemplo, fragmentos de anticuerpos que reconocen un CD73 específico (por ejemplo, CD73 humano, de ratón o de cynomolgus), y que se pueden generar mediante cualquier técnica conocida por los expertos en la técnica. Por ejemplo, los fragmentos Fab y F(ab')₂ descritos en el presente documento pueden producirse mediante escisión proteolítica de moléculas de inmunoglobulina, utilizando enzimas como papaína (para producir fragmentos Fab) o pepsina (para producir fragmentos F(ab')₂). Un fragmento Fab corresponde a uno de los dos brazos idénticos de un anticuerpo y contiene la cadena ligera completa emparejada con los dominios VH y CH1 de la cadena pesada. Un fragmento F(ab')₂ contiene los dos brazos de unión al antígeno de una molécula de anticuerpo unidos por enlaces disulfuro en la región de la bisagra.

[00625] Además, los anticuerpos descritos en el presente documento también se pueden generar usando varios métodos de presentación de fagos conocidos en la técnica. En los métodos de presentación de fagos, los dominios de anticuerpos funcionales se muestran en la superficie de las partículas de fagos que portan las secuencias de polinucleótidos que las codifican. En particular, las secuencias de ADN que codifican los dominios VH y VL se amplifican a partir de bibliotecas de ADNc de animales (por ejemplo, bibliotecas de ADNc humano o murino de tejidos afectados). El ADN que codifica los dominios VH y VL se recombina junto con un enlazador scFv mediante PCR y se clona en un vector fagémido. El vector se electropora en *E. coli* y la *E. coli* se infecta con fagos auxiliares. Los fagos utilizados en estos métodos son típicamente fagos filamentosos que incluyen fd y M13, y los dominios VH y VL se fusionan habitualmente de forma recombinante con el gen III o el gen VIII del fago. El fago que expresa un dominio de unión a antígeno que se une a un antígeno particular

puede seleccionarse o identificarse con antígeno, por ejemplo, usando un antígeno marcado o antígeno unido o capturado a una superficie sólida o perla. Ejemplos de métodos de presentación de fagos que se pueden usar para fabricar los anticuerpos descritos en este documento incluyen los descritos en Brinkman U *et al.*, (1995) *J Immunol Methods* 182: 41-50; Ames RS *et al.*, (1995) *J Immunol Methods* 184: 177-186; Kettleborough CA *et al.*, (1994) *Eur J Immunol* 24: 952-958; Persic L *et al.*, (1997) *Gene* 187: 9-18; Burton DR & Barbas CF (1994) *Advan Immunol* 57: 191-280; Solicitud PCT No. PCT/GB91/001134; Publicaciones Internacionales Nos. WO 90/02809, WO 91/10737, WO 92/01047, WO 92/18619, WO 93/11236, WO 95/15982, WO 95/20401, y WO 97/13844; y las Patentes de EE. UU. Nos. 5,698,426, 5,223,409, 5,403,484, 5,580,717, 5,427,908, 5,750,753, 5,821,047, 5,571,698, 5,427,908, 5,516,637, 5,780,225, 5,658,727, 5,733,743 y 5,969,108, todos los cuales se incorporan aquí como referencia en su totalidad.

[00626] Además, los anticuerpos descritos en el presente documento también se pueden generar usando métodos de inmunización específicos, solos o en combinación con tecnologías de presentación de fagos como se conoce en la técnica. Por ejemplo, recientemente se ha informado que la inmunización con ADN es una estrategia eficaz para la vacunación. Ver Bolhassani and Yazdi (2009) *Avicenna J Med Biotechnol.* 1:71-88, Liu *et al.* (2016) *Emerg Microbes Infect.* 5:e33 y van der Woning *et al.* (2016) *MAbs.* 8:1126-1135, cada uno de los cuales se incorpora aquí como referencia en su totalidad. La inmunización de animales con ADN que codifica una proteína de interés se puede realizar utilizando métodos similares a los de la inmunización animal tradicional utilizando la propia proteína, y puede incluir pasos similares de inmunización inicial y refuerzo. Después de la inmunización con ADN, se pueden preparar células de hibridoma. Alternativa o adicionalmente, las moléculas de ácido nucleico (por ejemplo, ARN) se pueden aislar de los tejidos (por ejemplo, bazo) del animal inmunizado para generar una biblioteca de presentación de fase para el cribado y selección de anticuerpos.

[00627] Como se describe en las referencias anteriores, después de la selección de fagos, las regiones codificantes de anticuerpos del fago pueden aislarse y usarse para generar anticuerpos completos, incluyendo anticuerpos humanos, o cualquier otro fragmento de unión a antígeno deseado, y expresarse en cualquier huésped deseado, incluyendo células de mamíferos, células de insectos, células vegetales, levaduras y bacterias, por ejemplo, como se describe a continuación. También se pueden emplear técnicas para producir de manera recombinante fragmentos de anticuerpos tales como fragmentos Fab, Fab' y F(ab')₂ usando métodos conocidos en la técnica, tales como los descritos en la solicitud PCT No. WO 92/22324; Mullinax RL *et al.*, (1992) *BioTechniques* 12(6): 864-9; Sawai H *et al.*, (1995) *Am*

J Reprod Immunol 34: 26-34; y Better M *et al.*, (1988) Science 240: 1041-1043, todos los cuales se incorporan aquí como referencia en su totalidad.

[00628] En ciertas realizaciones, para generar anticuerpos completos, se pueden usar cebadores de PCR que incluyen secuencias de nucleótidos VH o VL, un sitio de restricción y una secuencia flanqueante para proteger el sitio de restricción para amplificar las secuencias VH o VL de un molde, por ejemplo, clones de scFv. Utilizando técnicas de clonación conocidas por los expertos en la técnica, los dominios VH amplificados por PCR pueden clonarse en vectores que expresan una región constante VH, y los dominios VL amplificados por PCR pueden clonarse en vectores que expresan una región constante VL, por ejemplo, regiones constantes kappa o lambda humanas. Los dominios VH y VL también se pueden clonar en un vector que expresa las regiones constantes necesarias. Los vectores de conversión de cadena pesada y los vectores de conversión de cadena ligera se cotransfectan luego en líneas celulares para generar líneas celulares estables o transitorias que expresan anticuerpos de longitud completa, por ejemplo, IgG, usando técnicas conocidas por los expertos en la técnica.

[00629] Un anticuerpo quimérico es una molécula en la que diferentes porciones del anticuerpo se derivan de diferentes moléculas de inmunoglobulina. Por ejemplo, un anticuerpo quimérico puede contener una región variable de un anticuerpo monoclonal de ratón o rata fusionado a una región constante de un anticuerpo humano. Los métodos para producir anticuerpos quiméricos son conocidos en la técnica. Ver, por ejemplo, Morrison SL (1985) Science 229: 1202-7; Oi VT & Morrison SL (1986) BioTechniques 4: 214-221; Gillies SD *et al.*, (1989) J Immunol Methods 125: 191-202; y las Patentes de EE. UU. Nos. 5,807,715, 4,816,567, 4,816,397 y 6,331,415, todos los cuales se incorporan aquí como referencia en su totalidad.

[00630] Un anticuerpo humanizado es capaz de unirse a un antígeno predeterminado y que comprende una región marco que tiene sustancialmente la secuencia de aminoácidos de una inmunoglobulina humana y CDR que tienen sustancialmente la secuencia de aminoácidos de una inmunoglobulina no humana (por ejemplo, una inmunoglobulina murina). En realizaciones particulares, un anticuerpo humanizado también comprende al menos una porción de una región constante de inmunoglobulina (Fc), típicamente la de una inmunoglobulina humana. El anticuerpo también puede incluir las regiones CH1, bisagra, CH2, CH3 y CH4 de la cadena pesada. Un anticuerpo humanizado puede seleccionarse de cualquier clase de inmunoglobulinas, incluidas IgM, IgG, IgD, IgA e IgE, y cualquier isotipo, incluidas IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. Los anticuerpos humanizados se pueden producir usando una variedad de técnicas conocidas en la técnica, que incluyen, pero no se limitan a, injerto de CDR (Patente

- Europea No.. EP 239400; Publicación Internacional No. WO 91/09967; y las Patentes de EE. UU. Nos. 5,225,539, 5,530,101, y 5,585,089), revestir o re-emerger (Patente Europea No.s. EP 592106 and EP 519596; Padlan EA (1991) *Mol Immunol* 28(4/5): 489-498; Studnicka GM *et al.*, (1994) *Prot Engineering* 7(6): 805-814; y Roguska MA *et al.*, (1994) *PNAS* 91: 969-973),
- 5 barajar la cadena (la Patente de EE. UU. No. 5,565,332) y técnicas divulgadas en, por ejemplo, la Pat. de EE. UU. No. 6,407,213, la Pat. de EE. UU. No. 5,766,886, la Publicación Internacional No. WO 93/17105; Tan P *et al.*, (2002) *J Immunol* 169: 1119-25; Caldas C *et al.*, (2000) *Protein Eng.* 13(5): 353-60; Morea V *et al.*, (2000) *Methods* 20(3): 267-79; Baca M *et al.*, (1997) *J Biol Chem* 272(16): 10678-84; Roguska MA *et al.*, (1996) *Protein Eng* 9(10): 895
- 10 904; Couto JR *et al.*, (1995) *Cancer Res.* 55 (23 Supp): 5973s-5977s; Couto JR *et al.*, (1995) *Cancer Res* 55(8): 1717-22; Sandhu JS (1994) *Gene* 150(2): 409-10 y Pedersen JT *et al.*, (1994) *J Mol Biol* 235(3): 959-73, todos los cuales se incorporan aquí como referencia en su totalidad. Ver también la Publicación de Solicitud de EE. UU. No. US 2005/0042664 A1 (Feb. 24, 2005), que se incorpora aquí como referencia en su totalidad.
- 15 **[00631]** Métodos para preparar multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos) han sido descritos, ver, por ejemplo, las Patentes de EE. UU. Nos. 7,951,917; 7,183,076; 8,227,577; 5,837,242; 5,989,830; 5,869,620; 6,132,992 y 8,586,713, todas los cuales se incorporan aquí como referencia en su totalidad.
- [00632]** Los anticuerpos de dominio único, por ejemplo, los anticuerpos que carecen de
- 20 cadenas ligeras, pueden producirse mediante métodos bien conocidos en la técnica. ver Riechmann L & Muyldermans S (1999) *J Immunol* 231: 25-38; Nuttall SD *et al.*, (2000) *Curr Pharm Biotechnol* 1(3): 253-263; Muyldermans S, (2001) *J Biotechnol* 74(4): 277-302; la Patente de EE. UU. No. 6,005,079; y las Publicaciones Internacionales Nos. WO 94/04678, WO 94/25591 y WO 01/44301, todos los cuales se incorporan aquí como referencia en su
- 25 totalidad.
- [00633]** Además, los anticuerpos que se unen específicamente a un antígeno CD73 (por ejemplo, CD73 humano, de ratón o de cynomolgus) pueden, a su vez, utilizarse para generar anticuerpos antiidiotípicos que "imitan" un antígeno usando técnicas bien conocidas por los expertos en el arte. Ver, por ejemplo, Greenspan NS & Bona CA (1989) *FASEB J* 7(5): 437-
- 30 444; y Nissinoff A (1991) *J Immunol* 147(8): 2429-2438, cada uno de los cuales se incorpora aquí como referencia en su totalidad.
- [00634]** En realizaciones particulares, un anticuerpo descrito en este documento, que se une al mismo epítipo de CD73 (por ejemplo, CD73 humano, de ratón o de cynomolgus) como un anticuerpo anti-CD73 (por ejemplo, CD73 humano, de ratón o de cynomolgus) descrito aquí,

es un anticuerpo humano. En realizaciones particulares, un anticuerpo descrito en este documento, que bloquea competitivamente (por ejemplo, de una manera dependiente de la dosis) cualquiera de los anticuerpos descritos en este documento, desde la unión a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, de ratón o de cynomolgus), es un anticuerpo humano. Los anticuerpos

5 humanos se pueden producir usando cualquier método conocido en la técnica. Por ejemplo, pueden usarse ratones transgénicos que son incapaces de expresar inmunoglobulinas endógenas funcionales, pero que pueden expresar genes de inmunoglobulina humana. En particular, los complejos génicos de inmunoglobulina de cadena ligera y pesada humana pueden introducirse aleatoriamente o mediante recombinación homóloga en células madre

10 embrionarias de ratón. Alternativamente, la región variable humana, la región constante y la región de diversidad se pueden introducir en células madre embrionarias de ratón además de los genes de cadena ligera y pesada humana. Los genes de inmunoglobulina de cadena ligera y pesada de ratón pueden volverse no funcionales por separado o simultáneamente con la introducción de loci de inmunoglobulina humana mediante recombinación homóloga. En

15 particular, la delección homocigótica de la región JH evita la producción de anticuerpos endógenos. Las células madre embrionarias modificadas se expanden y microinyectan en blastocistos para producir ratones quiméricos. Los ratones quiméricos se crían luego para producir descendencia homocigótica que exprese anticuerpos humanos. Los ratones transgénicos se inmunizan de forma normal con un antígeno seleccionado, por ejemplo, todo o

20 una parte de un antígeno (por ejemplo, CD73 (por ejemplo, CD73 humano, de ratón o de cynomolgus)). Pueden obtenerse anticuerpos monoclonales dirigidos contra el antígeno a partir de ratones transgénicos inmunizados usando tecnología de hibridoma convencional. Los transgenes de inmunoglobulina humana alojados por los ratones transgénicos se reordenan durante la diferenciación de las células B y, posteriormente, experimentan cambio de clase y

25 mutación somática. Por tanto, utilizando una técnica de este tipo, es posible producir anticuerpos IgG, IgA, IgM e IgE terapéuticamente útiles. Para una descripción general de esta tecnología para producir anticuerpos humanos, ver Lonberg N & Huszar D (1995) Int Rev Immunol 13:65-93, incorporado aquí como referencia en su totalidad. Para una discusión detallada de esta tecnología para producir anticuerpos humanos y anticuerpos monoclonales

30 humanos y protocolos para producir tales anticuerpos, ver, por ejemplo, las Publicaciones Internacionales Nos. WO 98/24893, WO 96/34096 y WO 96/33735; y las Patented de EE. UU. Nos. 5,413,923, 5,625,126, 5,633,425, 5,569,825, 5,661,016, 5,545,806, 5,814,318 y 5,939,598, todas las cuales se incorporan aquí como referencia en su totalidad. Ejemplos de ratones capaces de producir anticuerpos humanos incluyen el XenomouseTM (Abgenix, Inc.;

las Patentes de EE. UU. Nos. 6,075,181 and 6,150,184), el HuAb-MouseTM (Medarex, Inc./Gen Pharm; las Patentes de EE. UU. Nos. 5,545,806 y 5,569, 825), el Trans Chromo MouseTM (Kirin) y el KM MouseTM (Medarex/Kirin), todos los cuales se incorporan aquí como referencia en su totalidad.

5 **[00635]** Los anticuerpos humanos que se unen específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, de ratón o de cynomolgus) se pueden preparar mediante una variedad de métodos conocidos en la técnica, incluidos los métodos de presentación en fagos descritos anteriormente usando bibliotecas de anticuerpos derivadas de secuencias de inmunoglobulinas humanas. *Ver* también las Patentes de EE. UU. Nos. 4,444,887, 4,716,111, y 5,885,793; y las Publicaciones
10 Internacionales Nos. WO 98/46645, WO 98/50433, WO 98/24893, WO 98/16654, WO 96/34096, WO 96/33735 y WO 91/10741, todas las cuales se incorporan aquí como referencia en su totalidad.

[00636] En determinadas realizaciones, se pueden producir anticuerpos humanos usando hibridomas de ratón-humano. Por ejemplo, los linfocitos de sangre periférica humana
15 transformados con el virus de Epstein-Barr (VEB) se pueden fusionar con células de mieloma de ratón para producir hibridomas de ratón-humano que secreten anticuerpos monoclonales humanos, y estos hibridomas de ratón-humano se pueden analizar para determinar los que secretan monoclonales anticuerpos humanos que se unen específicamente a un antígeno objetivo (por ejemplo, CD73 (por ejemplo, CD73 humano, de ratón o de cynomolgus)). Tales
20 métodos son conocidos y se describen en la técnica, ver, por ejemplo, Shinmoto H *et al.*, (2004) Cytotechnology 46: 19-23; Naganawa Y *et al.*, (2005) Human Antibodies 14: 27-31, cada uno de los cuales se incorpora aquí como referencia en su totalidad.

5.6 Kits

[00637] También se proporcionan kits que comprenden uno o más anticuerpos descritos en
25 el presente documento, o composiciones farmacéuticas o conjugados de los mismos. En una realización específica, se proporciona aquí un paquete o kit farmacéutico que comprende uno o más recipientes llenos con uno o más de los ingredientes de las composiciones farmacéuticas descritas en la presente, tales como uno o más anticuerpos proporcionados en la presente. En determinadas realizaciones, los kits contienen una composición farmacéutica descrita en este
30 documento y cualquier agente profiláctico o terapéutico, como los descritos en este documento. En determinadas realizaciones, los kits pueden contener un mitógeno de células T, como, por ejemplo, fitohemaglutinina (PHA) y/o acetato de forbol miristato (PMA), o un anticuerpo estimulante del complejo TCR, como un anticuerpo anti-CD3 y un anticuerpo anti-CD28. Opcionalmente, asociado con dicho contenedor(s) puede haber un aviso en la forma prescrita

por una agencia gubernamental que regula la fabricación, uso o venta de productos farmacéuticos o biológicos, cuyo aviso refleja la aprobación de la agencia de la fabricación, uso o venta para administración humana.

[00638] También se proporcionan kits que se pueden utilizar en los métodos anteriores. En una realización, un kit comprende un anticuerpo descrito en el presente documento, preferiblemente un anticuerpo purificado, en uno o más recipientes. En una realización específica, los kits descritos en el presente documento contienen un antígeno CD73 sustancialmente aislado (por ejemplo, CD73 humano, de ratón o de cynomolgus) como control. En otra realización específica, los kits descritos en el presente documento comprenden además un anticuerpo de control que no reacciona con un antígeno CD73 (por ejemplo, CD73 humano, de ratón o de cynomolgus). En otra realización específica, los kits descritos en este documento contienen uno o más elementos para detectar la unión de un anticuerpo a un antígeno (p. Ej., El anticuerpo se puede conjugar con un sustrato detectable como un compuesto fluorescente, un sustrato enzimático, un compuesto radiactivo o un compuesto luminiscente, o un segundo anticuerpo que reconoce el primer anticuerpo puede conjugarse con un sustrato detectable) CD73 (p. Ej., CD73 humano, de ratón o cynomolgus). En realizaciones específicas, un kit proporcionado aquí puede incluir un antígeno CD73 producido recombinantemente o sintetizado químicamente (por ejemplo, CD73 humano, de ratón o de cynomolgus). El antígeno CD73 (p. Ej., CD73 humano, de ratón o de cynomolgus) proporcionado en el kit también se puede unir a un soporte sólido. En una realización más específica, los medios de detección del kit descrito anteriormente incluyen un soporte sólido al que se une un antígeno CD73 (por ejemplo, CD73 humano, de ratón o de cynomolgus). Dicho kit también puede incluir un anticuerpo anti-humano marcado con indicador no unido o un anticuerpo anti-ratón/rata. En esta realización, la unión del anticuerpo al antígeno CD73 (por ejemplo, CD73 humano, de ratón o de cynomolgus) puede detectarse mediante la unión de dicho anticuerpo marcado con indicador. En una realización, la presente invención se refiere al uso de un kit de la presente invención para analizar y/o detectar *in vitro* el antígeno CD73 (por ejemplo, CD73 humano, de ratón o de cynomolgus) en una muestra biológica.

6. EJEMPLOS

[00639] Los ejemplos de esta sección (es decir, la sección 6) se ofrecen a modo de ilustración y no a modo de limitación.

6.1 Ejemplo 1: Caracterización de un anticuerpo anti-CD73

[00640] Este ejemplo describe la generación y caracterización de anticuerpos que se unen a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, CD73 de cynomolgus o CD73 de ratón). En particular,

este ejemplo describe anticuerpos murinos y quiméricos que se unen específicamente a CD73 humano, inhiben la actividad enzimática de CD73 humano y median la internalización de CD73 humano tras la unión.

6.1.1 Generación de anticuerpos anti-CD73

- 5 **[00641]** Se identificaron anticuerpos anti-CD73 inmunizando ratones con proteína CD73 humana recombinante o ADN que codifica CD73 humano, amplificando secuencias de ácido nucleico (p. Ej., ARN o secuencias de ADN complementarias) que codifican regiones variables de cadena pesada y regiones variables de cadena ligera de las células B esplénicas de los ratones inmunizados, ensamblando estas secuencias en vectores para formar una biblioteca de
- 10 presentación de fagos, y seleccionar clones de fagos que produzcan anticuerpos que tengan afinidad de unión a CD73 humano (Secuencia de referencia NCBI: AAH65937, SEQ ID NO: 129, R&D Systems, 5795EN). Se caracterizaron adicionalmente tres anticuerpos seleccionados, denominados BA010, BA011 y BA012. Las secuencias de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada y de la región variable de la cadena ligera de BA010,
- 15 BA011 y BA012 se exponen en las SEQ ID NO: 19 y 33; 20 y 34; y 21 y 35, respectivamente. Las regiones constantes se fusionaron a estas regiones variables para formar los anticuerpos descritos en este documento. Por ejemplo, el anticuerpo murino BA012 comprende una cadena ligera Igκ (SEQ ID NO: 92) y una cadena pesada IgG2a que tiene una sustitución N297A (SEQ ID NO: 64), numeradas según el sistema de numeración de la UE.
- 20 **[00642]** Se produjeron anticuerpos quiméricos injertando las regiones variables de las cadenas pesada y ligera de BA010, BA011 y BA012 a la región constante de la cadena pesada de IgG1 humana que tiene una sustitución N297A, numerada según el sistema de numeración de la UE, y la constante región de la cadena ligera de Igκ humana, respectivamente. Los anticuerpos quiméricos resultantes que se originan en BA010, BA011 y BA012 se denominan
- 25 BA013, BA014 y BA015, como se establece en las SEQ ID NO: 65 y 94, 67 y 95, y 70 y 96, respectivamente, para sus cadenas pesada y ligera. De manera similar, se produjeron otros anticuerpos quiméricos injertando las regiones variables de las cadenas pesada y ligera de BA012 en varias regiones constantes humanas. Por ejemplo, BA016, como se establece en las SEQ ID NO: 71 (cadena pesada) y 96 (cadena ligera), comprende un dominio constante de
- 30 IgG2 humana. BA017, como se establece en las SEQ ID NO: 73 (cadena pesada) y 96 (cadena ligera), comprende un dominio constante híbrido IgG1-A330S-P331S / IgG2 humana. BA018, como se establece en las SEQ ID NO: 75 (cadena pesada) y 96 (cadena ligera), comprende un dominio constante híbrido IgG1-N297A / IgG2 humano.

6.1.2 Unión de anticuerpos anti-CD73 a CD73 recombinante

[00643] Se usó resonancia de plasmón de superficie (SPR) para determinar la afinidad de BA013, BA014 y BA015 por CD73 recombinante usando el sistema BIAcore® T200 (GE Healthcare). Específicamente, se capturaron 2 µg/ml de anticuerpos diluidos en un tampón de funcionamiento (HEPES 10 mM, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM y surfactante P20 al 0.05%) en un Series S Sensor Chip Protein A (GE Healthcare Ltd, cat # 29 -1275-56) usando una inyección de 15 segundos a un flujo de 10 µl/min para alcanzar aproximadamente 80 unidades de resonancia (RU). Se hicieron fluir sobre la superficie del chip a un flujo de 30 µl/min, proteína CD73 recombinante humana, cynomolgus o de ratón fusionada con 6×His-tag (R&D Systems, 5795EN; Sino Biological, 90192-C08H; y R&D Systems, 4488EN, respectivamente) diluida en el tampón de funcionamiento a una concentración de aproximadamente 0,14 a 33 nM con una fase de asociación de 5 min y una fase de disociación de 20 min. El chip sensor se regeneró entre ciclos con una inyección de 30 segundos de glicina 10 mM, pH 1,5. Los sensogramas se evaluaron y se ajustaron a un modelo de interacción Langmuir 1:1 simple utilizando la opción de análisis de datos globales del software BiaEvaluation 3.1. La calidad de los datos se verificó inspeccionando visualmente las desviaciones y el ajuste de la curva, y evaluando los parámetros de R_{max}, Chi² y T_c. La cinética de unión (K_a, K_d y K_D) se determinó a partir de los análisis del sensorgrama y se muestran en las Tablas 7 y 8. Dos anticuerpos anti-CD73 de referencia, denominados Anticuerpo de referencia 1 ("RA001") y Anticuerpo de referencia 2 ("RA002"), se utilizaron para comparar.

Tabla 7. Medidas de afinidad basadas en SPR para anticuerpos anti-CD73

Clon	CD73 humano			CD73 de Cynomolgus			CD73 de ratón		
	K _a (1/Ms)	K _d (1/s)	K _D (nM)	K _a (1/Ms)	K _d (1/s)	K _D (nM)	K _a (1/Ms)	K _d (1/s)	K _D (nM)
BA013	1.0E+06	2.9E-03	2.8	3.0E+05	2.0E-04	0.7	4.2E+04	6.1E-04	14.5
BA014	4.6E+07	4.2E-04	0.010	5.0E+04	3.0E-05	0.6	2.5E+04	2.3E-04	9.4
BA015	2.8E+07	4.1E-04	0.015	3.1E+05	8.7E-05	0.3	6.1E+04	6.0E-04	10

Tabla 8. Comparación de afinidad entre BA015 y anticuerpos anti-CD73 de referencia

Clon	CD73 humano			CD73 de Cynomolgus		
	K _a (1/Ms)	K _d (1/s)	K _D (nM)	K _a (1/Ms)	K _d (1/s)	K _D (nM)

BA015	2.27E+0 6	2.00E- 04	0.088	1.14E+0 6	8.30E- 05	0.07
RA001	7.73E+0 5	3.49E- 05	0.045	6.81E+0 5	2.04E- 07	0.03
RA002	1.07E+0 6	1.99E- 04	0.186	4.55E+0 5	1.52E- 05	0.3

6.1.3 Unión de anticuerpos anti-CD73 a células que expresan CD73

[00644] La afinidad de los anticuerpos anti-CD73 BA013, BA014 y BA015 por CD73 asociado a la membrana se determinó evaluando su unión a células que expresan ectópicamente CD73 humano, cynomolgus o de ratón de longitud completa. Brevemente, se transdujeron células de ovario de hámster chino (CHO) con vectores lentivirales que comprenden una secuencia codificante de CD73 de ratón, cynomolgus o humano bajo el control de un promotor de CMV, y se generaron células CHO-CD73 estables mediante selección de antibióticos. La expresión de CD73 se verificó mediante citometría de flujo usando anticuerpos de control positivo. Las células CHO-CD73 estables se hicieron crecer en cultivo en suspensión en medio RPMI complementado con FBS inactivado por calor al 10% a 37°C y CO₂ al 5%. Para el análisis de unión, las células CHO-CD73 estables se incubaron durante 30 minutos a 4 ° C con una dosis de titulación de ocho puntos de un anticuerpo de prueba o control de isotipo de 0,005 a 10 µg/ml diluido en tampón FACS (PBS, EDTA 2 mM, BSA al 0,5%, pH 7,2). Se usó RA001, que tiene una cadena ligera de Igλ, para comparación. Las células se lavaron dos veces en tampón FACS y se incubaron con anticuerpo de detección kappa antihumano de ratón conjugado con FITC (para BA013, BA014 y BA015; Life Technologies, HP6062, dilución 1: 100 en tampón FACS) o con anticuerpo de detección lambda antihumano de cabra conjugado con FITC (para el anticuerpo de referencia 1; BD Biosciences, 644139, dilución 1: 100 en tampón FACS) durante 30 minutos a 4 ° C. A continuación, las células se lavaron dos veces y se analizaron usando el citómetro de flujo LSRFortessa™ (BD Biosciences). Los datos de FACS se analizaron utilizando el software FACS DIVA y WEHI Weasel, y se graficaron con el software Graphpad Prism.

[00645] Como se muestra en la Figura 1, BA013, BA014, BA015 y RA001 exhibieron cada uno unión dependiente de la dosis a CD73 de ratón, cynomolgus y humano.

6.1.4 Inhibición de la actividad enzimática de CD73 por anticuerpos anti-CD73

[00646] Se evaluó la capacidad de los anticuerpos anti-CD73 para inhibir la actividad enzimática de CD73 en células vivas que expresan ectópicamente CD73 humano. Brevemente, se transdujeron células Jurkat o células CHO con vectores lentivirales que comprenden una

secuencia codificante de CD73 humana bajo el control de un promotor EF1a. Se generaron líneas celulares estables mediante clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS ARIA Fusion) y se verificó la expresión de CD73 mediante citometría de flujo usando un anticuerpo anti-CD73 de control positivo RA001. Las células se hicieron crecer en cultivo en suspensión en medio RPMI complementado con FBS inactivado por calor al 10% a 37°C y CO₂ al 5%. Para el análisis de la actividad enzimática, las células CHO o Jurkat se sembraron en placas de cultivo de tejido de fondo plano a una densidad de 5 x 10⁴ células por pocillo. Se añadió a las células una dosis de titulación de ocho puntos de un anticuerpo anti-CD73 o de un anticuerpo de control de isotipo de 0,005 a 10 µg/ml para alcanzar un volumen final de 50 µl / pocillo. Después de una hora de incubación, se añadieron 25 µl de monofosfato de adenosina (AMP) 300 µM a cada pocillo para permitir la hidrólisis de AMP por CD73 durante 20 minutos a 37 ° C y 5% de CO₂. A continuación, se sedimentaron las células y se mezclaron aproximadamente 75 µl de sobrenadante con 25 µl de trifosfato de adenosina (ATP) 12 µM en una placa de cultivo de tejido de fondo plano blanco. Inmediatamente después, se añadieron 100 µl de CellTiter Glo® reconstituido (Promega) a cada pocillo, y se registró la luminiscencia usando el instrumento Envision (Perkin Elmer) después de 5 minutos.

[00647] Los niveles de luminiscencia se correlacionan con la actividad de CD73 en cada muestra, porque el AMP inhibe la reacción de luciferasa y la hidrólisis de AMP por CD73 alivia la inhibición. Por tanto, como se muestra en la Figura 2A, BA013, BA014, BA015 y RA001 inhibieron cada uno la actividad enzimática de CD73 expresada en células Jurkat. Los valores calculados del área bajo la curva (AUC) para los anticuerpos anti-CD73 en la Figura 2A se presentan en la Tabla 9. Se observó una inhibición similar por BA015 usando células CHO que expresan CD73 (Figura 2B).

Tabla 9. Valores de AUC para anticuerpos anti-CD73 en la Fig. 2A

Anticuerpo	AUC
BA013	215.2
BA015	239
BA014	260
RA001	407.9

25

6.1.5 Internalización de anticuerpos anti-CD73 tras la unión de CD73

[00648] Se analizó la internalización de anticuerpos anti-CD73 en células usando un ensayo de toxicidad celular, y se evaluó la internalización de CD73 mediada por anticuerpos usando un método de formación de imágenes de células vivas.

[00649] El ensayo de toxicidad celular empleó un conjugado anticuerpo-fármaco α HFc-NC-MMAE (anticuerpo anti-Fc IgG humano conjugado con monometil auristatina E (MMAE), con un enlazador no escindible, Moradec LLC), que podría transportar la carga útil citotóxica MMAE al citoplasma tras la internalización. Brevemente, una línea de células Jurkat que expresa ectópicamente CD73 humano, como se describe en la Sección 6.1.4, se sembró en placas blancas de cultivo de tejido de fondo plano a una densidad de 2×10^4 por pocillo. Se añadió a las células una dosis de titulación de ocho puntos de un anticuerpo anti-CD73 o de un anticuerpo de control de isotipo de 0,005 a 10 $\mu\text{g} / \text{ml}$, junto con α HFc-NC-MMAE a la misma concentración que el anticuerpo para alcanzar un volumen final de 100 μl /pocillo. Después de una incubación de 72 horas a 37 ° C y 5% de CO₂, se agregaron 90 μl de CellTiter Glo® reconstituido (Promega) a cada pocillo y se registró la luminiscencia, que representa la viabilidad celular, usando el instrumento Envision (Perkin Elmer) después de 5 minutos.

[00650] Como se muestra en la Figura 3A, la incubación con BA015, RA001 o RA002, junto con α HFc-NC-MMAE, provocó la muerte celular de las células Jurkat que expresan CD73 de una manera dependiente de la dosis. Los valores calculados de AUC para los anticuerpos anti-CD73 en la Figura 3A se presentan en la Tabla 10. Este resultado sugirió que BA015, RA001 y RA002 se internalizaron tras la unión de CD73.

Tabla 10. Valores de AUC para anticuerpos anti-CD73 en la Fig. 3A

Anticuerpo	AUC
BA015	20.81
RA002	30.92
RA001	35.98

20

[00651] La obtención de imágenes mediante microscopía de fluorescencia confocal de células vivas reveló la internalización de CD73. Específicamente, las células Jurkat que expresan ectópicamente una proteína de fusión HaloTag®-CD73, generada por un método similar al descrito en la Sección 6.1.4, se incubaron primero con 1 μM CellTrace Far Red Cell Proliferation Dye (Life Technologies) durante 30 minutos a 37°C y 5 % CO₂ para etiquetar los cuerpos celulares. A continuación, las células se lavaron en PBS y se tiñeron con un ligando HaloTag® Alexa Fluor™ 488 impermeable a la membrana (Promega, 1 μM) durante 15 minutos a 37°C y CO₂ al 5% para marcar la proteína de fusión HaloTag®-CD73 en la superficie celular. Las células marcadas se resuspendieron en medio de cultivo fresco a la densidad de 15.000 células por pocillo en una placa de microscopía de 384 pocillos y se

30

incubaron con 10 µg/ml de un anticuerpo anti-CD73 o un anticuerpo de control de isotipo. Las imágenes en vivo se recolectaron usando un microscopio ImageXpress Micro Confocal High-Content (Molecular Devices) a 37°C y 5% de CO₂, y las imágenes se adquirieron en el canal Cy5 (CellTrace Far Red Cell Proliferation Dye) y el canal FITC (HaloTag® Alexa Fluor™ 488) cada hora durante un curso de 6 horas. En total, para cada condición en cada punto de tiempo, se adquirieron cuatro imágenes (40 aumentos) que dieron como resultado un análisis de un promedio de 648 células ($\pm$ 87 células, desviación estándar). El análisis de imágenes para cuantificar la cantidad de CD73 internalizado se realizó utilizando el software de análisis MetaXpress (Molecular Devices).

- 10 **[00652]** Como se muestra en las Figuras 3B (imágenes representativas) y 3C (cuantificación de datos de imágenes), BA015 y RA001 promovieron cada uno una rápida internalización de CD73, como se demuestra por la fluorescencia de Alexa Fluor™ 488 en el citosol.

6.2 Ejemplo 2: Generación y caracterización de anticuerpos anti-CD73 humanizados

- 15 **[00653]** Este ejemplo describe la generación y caracterización de anticuerpos humanizados que se unen específicamente a CD73 (por ejemplo, CD73 humano, CD73 de cynomolgus y CD73 de ratón).

6.2.1 Generación de anticuerpos anti-CD73 humanizados

- 20 **[00654]** Se generaron variantes humanizadas de BA012 injertando las secuencias de CDR de cadena pesada y cadena ligera de BA012 en regiones marco de anticuerpos humanos. Una variante humanizada ejemplar, BA019, comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 77 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 97. Las variantes incorporan sustituciones de aminoácidos G24A / R98S en la cadena pesada región variable (VH), y/o F71Y en la región variable de
- 25 cadena ligera (VL), en las regiones estructurales humanas. Además, las variantes incorporaron sustituciones de aminoácidos en las CDR, como N55S/N61S o N55A/N61A en CDRH2 y N31I/Y32S en CDRL1. Las secuencias de los anticuerpos humanizados BA019-BA034 se describen en las Tablas 1-4. En particular, un anticuerpo anti-CD73 humanizado designado
- 30 BA020 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 97. Otro anticuerpo anti-CD73 humanizado designado BA025 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 97.

6.2.2 Unión de anticuerpos anti-CD73 humanizados y quiméricos a CD73 recombinante

[00655] La afinidad de algunos anticuerpos anti-CD73 humanizados (BA019-BA022 y BA024-BA030) a CD73 humano o cynomolgus se determinó mediante SPR usando el método descrito en la Sección 6.1.2. Se utilizaron BA012, RA001 y RA002 como controles. Las

5 cinéticas de unión (K_a , K_d y K_D) determinadas a partir de las curvas de unión se muestran en la Tabla 11.

Tabla 11. Afinidad de anticuerpos anti-CD73 por CD73 medida por SPR

Clon	CD73 humano			CD73 de Cynomolgus		
	K_a (1/Ms)	K_d (1/s)	K_D (nM)	K_a (1/Ms)	K_d (1/s)	K_D (nM)
RA001	7.39E+05	1.24E-05	0.02	3.38E+05	2.96E-05	0.09
RA002	4.14E+05	7.19E-05	0.17	3.57E+05	7.49E-05	0.21
BA012	1.46E+06	6.17E-05	0.04	1.47E+06	7.23E-05	0.05
BA019	1.21E+06	1.21E-04	0.1	9.88E+05	1.28E-04	0.13
BA020	1.12E+06	7.35E-05	0.06	1.06E+06	9.83E-05	0.09
BA021	9.82E+05	1.66E-04	0.17	9.38E+05	1.82E-04	0.19
BA022	1.07E+06	8.57E-05	0.08	1.01E+06	1.05E-04	0.1
BA024	1.09E+06	7.43E-04	0.68	9.20E+05	6.45E-04	0.7
BA025	1.22E+06	2.29E-04	0.19	1.14E+06	2.60E-04	0.23
BA026	1.13E+06	1.85E-04	0.17	1.05E+06	2.16E-04	0.21
BA027	1.23E+06	9.40E-04	0.76	1.16E+06	9.83E-04	0.85
BA028	1.13E+06	1.20E-03	1.1	1.06E+06	1.29E-03	1.2
BA029	1.20E+06	4.42E-04	0.37	1.13E+06	4.70E-04	0.42
BA030	1.08E+06	3.63E-04	0.34	1.02E+06	3.95E-04	0.39

De manera similar, la cinética de unión para los anticuerpos quiméricos (dominio variable murino + dominio constante humano) BA016 y BA018 se muestra en la Tabla 12. Específicamente, se usaron diferentes variantes de Fc para RA001 y RA002, así como el anticuerpo murino BA012, para comparación.

Tabla 12. Comparación de afinidad entre anticuerpos anti-CD73 con diferentes regiones Fc

Clon	Fc	CD73 humano			CD73 de Cynomolgus			CD73 de ratón		
		K _a (1/M s)	K _d (1/s)	K _D (nM)	K _a (1/M s)	K _d (1/s)	K _D (nM)	K _a (1/M s)	K _d (1/s)	K _D (nM)
BA012	IgG1-N297A	1.47E+06	8.11E-05	0.06	1.36E+06	9.46E-05	0.07	8.90E+06	7.07E-03	0.79
BA016	IgG2	1.33E+06	3.38E-04	0.25	1.29E+06	3.27E-04	0.25	3.15E+06	7.85E-03	2.50
BA018	IgG1/IgG2 hybrid	1.40E+06	1.51E-04	0.10	1.41E+06	1.65E-04	0.01	8.37E+06	1.58E-02	1.90
RA001	IgG1-N297A	3.16E+05	1.89E-05	0.06	2.95E+05	1.66E-05	0.06	8.88E+04	2.19E-05	0.25
	IgG2	4.17E+05	8.85E-05	0.21	3.39E+05	1.09E-04	0.32	1.50E+05	9.95E-05	0.70
	IgG1/IgG2 hybrid	3.25E+05	1.30E-05	0.04	3.08E+05	2.48E-05	0.09	1.40E+05	4.36E-06	0.03
RA002	IgG1-N297A	3.71E+05	7.37E-05	0.20	3.89E+05	8.19E-05	0.21	NB	NB	NB
	IgG4-S228P	4.14E+05	7.19E-05	0.17	3.57E+05	7.49E-05	0.21	NB	NB	NB

NB: no hay unión

6.2.3 Unión de anticuerpos anti-CD73 humanizados a células que expresan CD73

[00656] Se determinaron las afinidades de los anticuerpos anti-CD73 humanizados por CD73 asociado a la membrana. Específicamente, se generaron células CHO que expresaban ectópicamente CD73 humano o de cynomolgus de longitud completa, y se examinó la unión de los anticuerpos a las células, usando el método descrito en el Ejemplo 6.1.3. BA015, RA001 y RA002 también se examinaron para comparar.

[00657] Como se muestra en las Figuras 4A-4P y 5A-5P, cada uno de los anticuerpos humanizados probados, BA019-BA030, así como el anticuerpo quimérico BA015 y los dos anticuerpos de referencia, pero no el control de isotipo, exhibieron unión dependiente de la dosis a CD73 de cynomolgus (Figuras 4A-4P) y CD73 humano (Figuras 5A-5P). Los valores calculados de AUC para los anticuerpos anti-CD73 en las Figuras 4B-4P y las Figuras 5B-5P se presentan en la Tabla 13 y la Tabla 14, respectivamente.

Tabla 13. Valores de AUC para anticuerpos anti-CD73 en las Figs. 4B-4P

Anticuerpo	AUC
RA001	1848
BA026	1881
BA030	1920
RA002	2054
BA028	2178
BA021	2196
BA027	2212
BA029	2267
BA023	2285
BA024	2340
BA022	2386
BA019	2421
BA015	2441
BA020	2486
BA025	2827

Tabla 14. Valores de AUC para anticuerpos anti-CD73 en las Figs. 5B-5P

Anticuerpo	AUC
RA002	61111
BA030	68786
BA026	72777
RA001	77155
BA028	90740
BA023	97165
BA029	97805
BA024	99898
BA027	101503
BA019	102780
BA025	103903
BA021	108065
BA015	112756
BA020	113013
BA022	123732

6.2.4 Inhibición de la actividad enzimática de CD73 por anticuerpos anti-CD73

[00658] Se evaluó la capacidad de los anticuerpos anti-CD73 humanizados para inhibir la actividad enzimática de CD73 usando el mismo método que se describe en el Ejemplo 6.1.4.

5 BA015, RA001 y RA002 también se examinaron para comparar.

[00659] Como se muestra en las Figuras 6A-6P, cada uno de los anticuerpos humanizados probados, BA019-BA030, así como el anticuerpo quimérico BA015 y los dos anticuerpos de referencia, pero no el control de isotipo, inhibieron la actividad enzimática de CD73 expresada en células Jurkat. Los valores de AUC calculados para los anticuerpos anti-CD73 en las Figuras

10 6B-6P se presentan en la Tabla 15.

Tabla 15. Valores de AUC para anticuerpos anti-CD73 en las Figs. 6B-6P

Anticuerpo	AUC
BA021	301.6
BA025	317.5
BA015	327.5
BA019	329.2
BA024	360.8
BA028	368.4
BA020	377.8
RA002	384.4
BA022	385.8
BA026	386.6
BA023	386.7
BA030	396.9
BA029	400.5
RA001	436.4
BA027	442.2

[00660] Además, se evaluó la capacidad de los anticuerpos humanizados para inhibir la actividad enzimática de CD73 usando un ensayo bioquímico. Específicamente, un CD73 humano recombinante fusionado con 6×His-tag (R&D Systems, 5795EN) se entrecruzó con

15 placas de 96 pocillos recubiertas de níquel blanco durante la noche a 4 ° C en un tampón de ensayo (Tris 25 mM, pH 7,5, MgCl₂ 5 mM y Tween-20 al 0,005%). Los pocillos se lavaron suavemente dos veces y se añadió una dosis de titulación de ocho puntos de un anticuerpo anti-

CD73 o un anticuerpo de control de isotipo de 0,005 a 10 $\mu\text{g} / \text{ml}$ a un volumen final de 50 μl /pocillo. Las muestras se incubaron durante 1 hora a 37 ° C y 5% de CO₂, y se agregaron 50 μl de AMP 200 μM y ATP 6 μM a cada pocillo. Después de una incubación de 20 minutos a 37 ° C y CO₂ al 5%, se añadieron 100 μl de CellTiter Glo® reconstituido (Promega) a cada pocillo y se registró la luminiscencia usando el instrumento Envision (Perkin Elmer) después de 5 minutos. BA015, RA001 y RA002 también se examinaron para comparar.

[00661] De manera similar al ensayo basado en células descrito anteriormente, en este ensayo bioquímico, los niveles de luminiscencia se correlacionan con la actividad de CD73 en cada muestra, porque el AMP inhibe la reacción de luciferasa y la hidrólisis de AMP por CD73 alivia la inhibición. Por tanto, como se muestra en las Figuras 7A-7P, cada uno de los anticuerpos humanizados ensayados, BA019-BA030, así como el anticuerpo quimérico BA015 y los dos anticuerpos anti-CD73 de referencia, pero no el control de isotipo, inhibieron la actividad enzimática del CD73 recombinante. Los valores calculados de AUC para los anticuerpos anti-CD73 en las Figuras 7B-7P se presentan en la Tabla 16.

Tabla 16. Valores de AUC para anticuerpos anti-CD73 en las Figs. 7B-7P

Anticuerpo	AUC
BA025	66.11
BA021	71.93
BA022	82.64
RA001	85.1
BA027	85.87
BA029	88.63
BA015	91.2
BA026	95.04
BA020	95.3
BA019	98.11
BA024	110.8
BA023	116
BA030	116.1
BA028	124.5
RA002	171.3

6.2.5 Anticuerpos anti-CD73 que median la internalización de CD73

[00662] La internalización de anticuerpos anti-CD73 humanizados en células se analizó usando el ensayo de toxicidad celular como se describe en la Sección 6.1.5.

[00663] Como se muestra en las Figuras 8A-8M, la incubación con cada uno de BA019-BA027 y BA030, junto con α HFc-NC-MMAE, provocó la muerte celular de células Jurkat que expresan CD73 de una manera dependiente de la dosis. Este resultado sugirió la internalización dependiente de la dosis de estos anticuerpos anti-CD73 tras la unión de CD73.

6.3 Ejemplo 3: Generación y caracterización de proteínas de fusión anti-CD73-TGF β trap

[00664] Este ejemplo describe la generación y caracterización de anticuerpos que comprenden una parte de unión a CD73 y una parte de unión a TGF β ("TGF β trap"). Estos anticuerpos también se denominan proteínas de fusión anti-CD73-TGF β -trap en este Ejemplo y en el Ejemplo 4.

6.3.1 Generación de proteínas de fusión trampa anti-CD73-TGF β

5 [00665] Las proteínas de fusión de trampa anti-CD73-TGF β ejemplares comprenden un primer polipéptido que comprende, desde el extremo N-terminal al extremo C-terminal, una cadena pesada de un anticuerpo anti-CD73 descrito en este documento, un enlazador peptídico y un dominio extracelular de TGF β R2; y un segundo polipéptido que comprende una cadena ligera del anticuerpo anti-CD73. Las secuencias de conectores peptídicos ejemplares, la
10 porción de "trampa de TGF β " y las proteínas de fusión de trampa anti-CD73-TGF β se describen en la Tabla 6.

[00666] En particular, una proteína de fusión de trampa anti-CD73-TGF β denominada BA035 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 113 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:
15 92. Otra proteína de fusión de trampa anti-CD73-TGF β denominada BA036 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 114 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 97. Un tercer ejemplo de proteína de fusión de trampa anti-CD73-TGF β denominada BA037 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 115 y una cadena ligera
20 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 97. BA035 y BA037 se examinaron en este Ejemplo y el Ejemplo 4. En los siguientes experimentos, se usaron dos anticuerpos adicionales para la comparación: (i) BA012, un anticuerpo anti-CD73 que tiene las mismas secuencias que la porción anti-CD73 de BA035, se usó para representar la actividad de la porción de unión a CD73 de BA035; y (ii) trampa de isotipo-TGF β , un anticuerpo de
25 control de isotipo que comprende el enlazador peptídico y el dominio extracelular de TGF β R2, se usó para representar la actividad de las porciones de unión a TGF β de BA035 y BA037. Se usó un anticuerpo de control de isotipo sin el péptido enlazador o el dominio extracelular de TGF β R2 para representar la línea de base. BA035 y los controles de isotipo correspondientes estaban en el formato de IgG2a de ratón con una sustitución N297A en la región constante de
30 la cadena pesada. BA037 y los controles correspondientes fueron anticuerpos humanizados en formato IgG1 humano con mutación N297A.

6.3.2. Unión de la proteína de fusión de trampas anti-CD73-TGF β a CD73

[00667] La afinidad de unión de BA037 por CD73 recombinante se determinó mediante resonancia de plasmón de superficie (SPR) usando el sistema BIAcore® T200 (GE

Healthcare). BA037 (proteína de fusión de trampa anti-CD73-TGF β humana), BA025 (un anticuerpo anti-CD73 que tiene las mismas secuencias que la porción anti-CD73 de BA037) o una trampa de isotipo-TGF β se capturaron en un chip sensor CM5 (GE Healthcare, Serie Sensor Chip CM5, 29-1496-03) utilizando IgG antihumana de ratón inmovilizada en chip (GE Healthcare, Human Antibody Capture Kit, BR100839). Específicamente, los anticuerpos diluidos en un tampón de migración (HEPES 10 mM, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM y surfactante P20 al 0.05%) se capturaron usando una inyección de 30 segundos a una velocidad de flujo de 10 μ l / min para alcanzar niveles de captura óptimos para análisis cinético (aproximadamente 55 RU para BA025 y aproximadamente 60 RU para BA037 y trampa de isotipo-TGF β). La concentración de anticuerpo para alcanzar el nivel de captura óptimo se determinó por separado para cada experimento. Se aplicó proteína CD73 recombinante humana, cynomolgus o de ratón (R&D Systems, 5795EN; Sino Biological, 90192-C08H; y Sino Biological, 50231-M08H, respectivamente), diluida en el tampón de ejecución a una concentración de aproximadamente 0.098 a 100 nM. a la superficie del chip a un caudal de 100 μ l / min con una fase de asociación de 3 min y una fase de disociación de 20 min. El chip sensor se regeneró entre ciclos con dos inyecciones de 30 segundos de MgCl₂ 3M. Los parámetros cinéticos se determinaron usando un modelo de unión Langmuir 1: 1 usando el software de evaluación BIAcore® T200 Evaluation v3.0 (GE Healthcare). El análisis asumió que cada brazo Fab del anticuerpo interactuaba con una molécula de CD73 dimérica. La calidad de los datos se verificó inspeccionando visualmente las desviaciones y el ajuste de la curva, y evaluando los parámetros de valor U, R_{max}, Chi² y T_c. Las cinéticas de unión (K_a, K_d y K_D) se determinaron a partir de los análisis de sensogramas y se muestran en la Tabla 17. Los valores son la media geométrica de tres experimentos. No se observó unión medible para CD73 de ratón a BA037 o BA025. No se observó unión medible para CD73 a la trampa de isotipo-TGF β .

Tabla 17. Medidas de afinidad basadas en SPR para la unión de BA025 y BA037 a CD73

Clon	CD73 humano			Cynomolgus CD73		
	K _a (1/Ms)	K _d (1/s)	K _D (nM)	K _a (1/Ms)	K _d (1/s)	K _D (nM)
BA037	4.79E+06	3.31E-04	0.069	1.97E+06	2.40E-04	0.122
BA025	3.87E+06	3.23E-04	0.083	1.64E+06	2.33E-04	0.143

6.3.3 Unión de la proteína de fusión de trampas anti-CD73-TGF β a TGF β

[00668] La afinidad de unión de BA037 por TGF β recombinante se determinó mediante resonancia de plasmón de superficie (SPR) usando el sistema BIAcore® T200 (GE

Healthcare). BA037, BA025, o una trampa de isotipo-TGF β se capturaron en un chip sensor CM5 (GE Healthcare, Series Sensor Chip CM5, 29-1496-03) usando IgG antihumano de ratón inmovilizado en chip (GE Healthcare, Human Antibody Capture Kit, BR100839). Específicamente, los anticuerpos diluidos en un tampón de migración (HEPES 10 mM, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM y surfactante P20 al 0.05%) se capturaron usando una inyección de 30 segundos a una velocidad de flujo de 10 μ l / min para alcanzar niveles de captura óptimos para análisis cinético (aproximadamente 110 RU para BA025 y aproximadamente 120 RU para BA037 y trampa de isotipo-TGF β). La concentración de anticuerpo para alcanzar el nivel de captura óptimo se determinó por separado para cada experimento. En este ejemplo se usó proteína recombinante TGF β 1, TGF β 2 o TGF β 3 humana (Peprotech, AF-100-21C; Peprotech, 100-35B; Peprotech, AF-100-36E, respectivamente). Cada TGF β se diluyó en el tampón de migración a concentraciones de 0,0312 a 32 nM y se hizo fluir sobre la superficie del chip a un caudal de 100 μ l / min con una fase de asociación de 3 min y una fase de disociación de 20 min. El chip sensor se regeneró entre ciclos con dos inyecciones de 30 segundos de MgCl₂ 3M. Los parámetros cinéticos se determinaron usando un modelo de unión Langmuir 1: 1 usando el software de evaluación BIAcore® T200 Evaluation v3.0 (GE Healthcare). La calidad de los datos se verificó inspeccionando visualmente las desviaciones y el ajuste de la curva, y evaluando los parámetros de valor U, Rmax, Chi² y Tc. Las cinéticas de unión (K_a, K_d y K_D) se determinaron a partir de los análisis de sensogramas y se muestran en la Tabla 18. Los valores son la media geométrica de tres experimentos.

Tabla 18. Medidas de afinidad basadas en SPR para la unión de BA037 y BA025 a TGF β

	TGF β 1 Humano			TGF β 2 Humano			TGF β 3 Humano		
Clon	K _a (1/Ms)	K _d (1/s)	K _D	K _a (1/Ms)	K _d (1/s)	K _D	K _a (1/Ms)	K _d (1/s)	K _D
BA037	9.66E+07	2.05E-04	2.1 pM	5.54E+07	8.85E-02	1.6 nM	5.00E+07	2.09E-04	4.2 pM
trampa de isotipo-TGF β	7.01E+07	9.63E-05	1.4 pM	5.67E+07	1.78E-01	1.5 nM	6.16E+07	1.40E-04	2.3 pM

6.3.4 Unión de proteínas de fusión trampa anti-CD73-TGF β a células que expresan CD73

[00669] Se evaluó la afinidad de BA035 por CD73 asociado a membrana. Específicamente, se transdujeron células CHO con vectores lentivirales que comprenden una secuencia codificante de CD73 de ratón de longitud completa bajo el control de un promotor de CMV, y se generaron células CHO-muCD73 estables mediante selección de antibióticos. La expresión

de CD73 de ratón se verificó mediante citometría de flujo usando anticuerpos de control positivo. Las células CHO-muCD73 estables se hicieron crecer en cultivo en suspensión en medio RPMI complementado con FBS inactivado por calor al 10% a 37°C y CO₂ al 5%. Para el análisis de unión, las células CHO-muCD73 estables se incubaron durante 30 minutos a 4 °

5 C con una titulación de dosis de ocho puntos de BA035, BA012, trampa de isotipo-TGFβ o anticuerpo de control de isotipo de 0,005 a 10 µg / ml diluido en FACS tampón (PBS, EDTA 2 mM, BSA al 0,5%, pH 7,2). Las células se lavaron dos veces en tampón FACS y se incubaron con anticuerpo de detección kappa antihumano de ratón conjugado con FITC (Life Technologies, HP6062, dilución 1: 100 en tampón FACS) durante 30 minutos a 4°C. A

10 continuación, las células se lavaron dos veces y se analizaron usando el citómetro de flujo LSRFortessa™ (BD Biosciences). Los datos de FACS se analizaron utilizando el software FACS DIVA y WEHI Weasel, y se trazaron con el software Graphpad Prism.

[00670] Como se muestra en la Figura 9A, BA035 retuvo su capacidad para unirse a CD73, lo que sugiere que la fusión con la trampa de TGFβ no anuló la capacidad de unión a CD73 de

15 los anticuerpos anti-CD73.

[00671] La afinidad de unión de BA035 a CD73 se evaluó adicionalmente en presencia de TGFβ. Específicamente, se añadió una titulación de dosis de diez puntos de TGFβ1 humano recombinante (Peprotech) de 0,002 a 40 µg / ml a células CHO-muCD73 estables junto con 10 µg / ml de BA035, BA012 o anticuerpo de control de isotipo. Después de una incubación de

20 30 minutos a 37 ° C y 5% de CO₂, las células se lavaron dos veces en tampón FACS y se incubaron con anticuerpo de detección de kappa antihumano de ratón conjugado con FITC (Life Technologies, HP6062, dilución 1: 100 en tampón FACS) durante 30 minutos a 4 ° C. A continuación, las células se lavaron dos veces y se analizaron usando el citómetro de flujo LSRFortessa™ (BD Biosciences). Los datos de FACS se analizaron utilizando el software

25 FACS DIVA y WEHI Weasel, y se trazaron con el software Graphpad Prism.

[00672] Como se muestra en la Figura 9B, BA035 retuvo su capacidad para unirse a CD73 en presencia de TGFβ1.

[00673] En un experimento separado, se analizó la afinidad de BA037 por CD73 asociado a la membrana de células T CD8 + primarias humanas, de mono cynomolgus o de ratón (para

30 las células de ratón, se verificó la expresión de CD73 de ratón mediante citometría de flujo usando anticuerpos de control positivo). Específicamente, las PBMC y los esplenocitos criopreservados se descongelaron en medio RPMI-1640. Para el análisis de unión, se incubaron PBMC o esplenocitos durante 30 minutos a 4 ° C con una titulación de dosis de doce puntos de BA037, BA025, trampa de isotipo-TGFβ o anticuerpo de control de isotipo, cada uno

conjugado con PE, de 0,004 a 666 nM diluido en tampón de ensayo (PBS, BSA al 0,5%, Trustain FcXTM 1: 100). Las células también se tiñeron con Zombie NIRTM, anti-CD3 marcado con fluorescencia y anti-CD8 marcado con fluorescencia para identificar células T CD8 + viables. A continuación, las células se lavaron dos veces y se analizaron usando el

5 citómetro de flujo LSRFortessa™ (BD Biosciences). Los datos de FACS se analizaron utilizando el software WEASEL y se trazaron con el software Graphpad Prism. Las Figuras 13A y 13B muestran los datos de unión de células T de mono cynomolgus y humanos obtenidos de este experimento.

[00674] Como se muestra en las Figuras 13A y 13B, BA037 demostró unión dependiente

10 de la dosis a células T CD8 + humanas y de mono cynomolgus, que era ampliamente similar a la observada para BA025 (el componente anti-CD73 de BA037). Las curvas de unión de BA037 a células T CD8 + humanas y de mono cynomolgus eran comparables entre sí con valores de CE50 celular promedio de 2,57 y 9,67 nM respectivamente. En contraste, no se observó unión con anticuerpos de control de isotipo (con o sin una fusión de trampa de

15 TGFβRII). No se observó unión de BA037 a células T CD8 + de ratón (datos no mostrados).

6.3.5 Inhibición de la actividad enzimática de CD73 por proteínas de fusión trampa anti-CD73-TGFβ

[00675] La capacidad de BA035 para inhibir la actividad enzimática de CD73 se evaluó

20 usando un ensayo bioquímico. Específicamente, 0.3 µg / ml de proteína CD73 recombinante humana, cinomolgus o de ratón fusionada con una etiqueta His 6 × (R&D Systems, 5795EN; Sino Biological, 90192-C08H; o R&D Systems, 4488EN, respectivamente) se mezclaron con una dosis de titulación de ocho puntos de BA035, BA012, trampa de isotipo-TGFβ o anticuerpo de control de isotipo de 0,005 a 10 µg / ml en un tampón de ensayo (Tris 25 mM pH 7,5, MgCl2

25 5 mM y Tween-20 al 0,005%) para alcanzar un volumen final de 50 µl / pocillo en una placa blanca tratada con cultivo de tejidos. Las muestras se incubaron durante 30 minutos a 37°C y CO2 al 5%, y se añadieron a cada pocillo 50 µl de AMP 200 µM y ATP 6 µM. Después de una incubación de 20 minutos a 37 ° C y CO2 al 5%, se añadieron 100 µl de CellTiter Glo® reconstituido (Promega) a cada pocillo y se registró la luminiscencia usando el instrumento

30 Envision (Perkin Elmer) después de 5 minutos. Los datos se trazaron con el software Graphpad Prism.

[00676] Como se muestra en las Figuras 9C y 9D, BA035 retuvo su capacidad para inhibir la actividad de CD73, lo que sugiere que la fusión con la trampa de TGFβ no anuló la función inhibidora de CD73 de los anticuerpos anti-CD73.

[00677] La capacidad de BA035 para inhibir la actividad de CD73 se evaluó adicionalmente en presencia de TGF β . Específicamente, se mezclaron 40 μg / ml de TGF β 1 humano recombinante (Peprotech) con 0,3 μg / ml de proteína CD73 de ratón recombinante y una dosis de titulación de ocho puntos de BA035, BA012, trampa de isotipo-TGF β o anticuerpo de control de isotipo de 0,009 a 6,6 μg / ml para alcanzar un volumen final de 50 μl (la concentración final de TGF β 1 debe ser de 20 μg / ml). Las muestras se incubaron durante 30 minutos a 37°C y CO₂ al 5%, y se añadieron a cada pocillo 50 μl de AMP 200 μM y ATP 6 μM . Después de una incubación de 20 minutos a 37 ° C y CO₂ al 5%, se añadieron 100 μl de CellTiter Glo® reconstituido (Promega) a cada pocillo y se registró la luminiscencia usando el instrumento Envision (Perkin Elmer) después de 5 minutos. Los datos se trazaron con el software Graphpad Prism.

[00678] Como se muestra en la Figura 9E, BA035 retuvo su capacidad para inhibir la actividad de CD73 en presencia de TGF β 1.

[00679] En un experimento separado, también se evaluó la capacidad de BA037 para inhibir la actividad enzimática de CD73 unida a placa. Específicamente, 50 μL de 300 ng / ml de proteína CD73 recombinante humana, cynomolgus o de ratón fusionada con una etiqueta His 6 $\times$ (R&D Systems, 5795EN; Sino Biological, 90192-C08H; o, Sino Biological, 50231-M08H, respectivamente) se incubó en cada pocillo de una placa blanca de 96 pocillos de fondo plano recubierta de Ni durante 2 horas a 37°C. Después de lavar dos veces, se añadieron a cada pocillo 50 μl / pocillo de BA037, BA025, trampa de isotipo-TGF β o anticuerpo de control de isotipo. Para CD73 humano y de mono cynomolgus, se utilizó una curva de concentración de diez puntos de 0,001 a 20 nM de anticuerpo en un tampón de ensayo. Para CD73 de ratón, se usó una curva de concentración de ocho puntos de 0,01 a 20 nM de anticuerpo en un tampón de ensayo. Las muestras se incubaron durante 60 minutos a 37 ° C y CO₂ al 5%, y se añadieron a cada pocillo 50 μL de AMP 200 μM y ATP 6 μM . Después de una incubación de 20 minutos a 37°C y CO₂ al 5%, se añadieron 100 μl de CellTiter Glo® reconstituido (Promega) a cada pocillo y se registró la luminiscencia usando un instrumento EnVision (Perkin Elmer) después de 5 minutos. Los datos se trazaron con el software Graphpad Prism.

[00680] Se evaluó la capacidad de BA037 para inhibir la actividad enzimática de CD73 soluble usando un ensayo bioquímico. Específicamente, se mezclaron 0,3 μg / ml de proteína CD73 recombinante humana, cynomolgus o de ratón fusionada con una etiqueta His 6 $\times$ (R&D Systems, 5795EN; Sino Biological, 90192-C08H; o, Sino Biological, 50231-M08H, respectivamente) con una dosis de titulación de once puntos de BA037, BA025, trampa de isotipo-TGF β o anticuerpo de control de isotipo de 0,005 a 100 nM en un tampón de ensayo

(Tris 25 mM pH 7,5, MgCl₂ 5 mM) para alcanzar un volumen final de 50 µl / pocillo en una placa blanca tratada con cultivo de tejidos. Las muestras se incubaron durante 60 minutos a 37 ° C y CO₂ al 5%, y se añadieron a cada pocillo 50 µl de AMP 200 µM y ATP 6 µM. Después de una incubación de 20 minutos a 37 ° C y 5% de CO₂, se añadieron 100 µl de CellTiter Glo® reconstituido (Promega) a cada pocillo y se registró la luminiscencia usando un instrumento EnVision (Perkin Elmer) después de 5 minutos. Los datos se trazaron con el software Graphpad Prism.

[00681] También se evaluó la capacidad de BA037 para inhibir la actividad enzimática de CD73 expresada en células. En este experimento se usaron células Jurkat que expresan CD73 humano (o células de control que no expresan CD73). Las células a una concentración de 1 x 10⁶ células / ml se sembraron en una placa de cultivo celular transparente de fondo plano de 96 pocillos en un volumen de 50 µl / pocillo. A continuación, se añadieron 50 µl / pocillo de BA037, BA025, trampa de isotipo-TGFβ o anticuerpo de control de isotipo a cada pocillo en una curva de concentración de diez puntos de 0,001 a 20 nM de anticuerpo en un tampón de ensayo. Las muestras se incubaron durante 60 minutos a 37°C y CO₂ al 5%, y se añadieron a cada pocillo 50 µL de AMP 200 µM y ATP 6 µM. Después de una incubación de 20 minutos a 37°C y CO₂ al 5%, se añadieron 100 µl de CellTiter Glo® reconstituido (Promega) a cada pocillo y se registró la luminiscencia usando un instrumento EnVision (Perkin Elmer) después de 5 minutos. Los datos se trazaron con el software Graphpad Prism.

[00682] Como se muestra en las Figuras 14A, 14B, 15A y 15B, BA037 demostró una inhibición dependiente de la dosis de la actividad enzimática de CD73 recombinante de mono cynomolgus y humano en formato de placa con valores de CI₅₀ promedio de 0.518 nM y 0.707 nM, respectivamente. BA025 inhibió de manera similar la actividad enzimática de CD73 en todas las especies, mientras que el anticuerpo de control de isotipo y la proteína de fusión de trampa de isotipo-TGFβ no lo hicieron, confirmando así que la inhibición efectuada por BA037 se debió completamente a la porción anti-CD73 de la molécula. Como se esperaba, BA037 no bloqueó la actividad enzimática del CD73 recombinante de ratón (datos no mostrados), debido a su baja afinidad por el CD73 de ratón. Por el contrario, un anticuerpo anti-CD73 de ratón (Clon TY / 11.8) inhibió la actividad de CD73 de ratón recombinante de una manera dependiente de la dosis (datos no mostrados).

[00683] Como se muestra en las Figuras 14C, 14D, 15C y 15D, BA037 demostró una inhibición dependiente de la dosis de la actividad enzimática de CD73 recombinante de mono cynomolgus y humano en forma soluble, con valores de CI₅₀ promedio de 0,99 nM y 0,623 nM, respectivamente.

[00684] Como se muestra en las Figuras 16A y 16B, BA037 también inhibió la actividad enzimática de CD73 humana producida por células Jurkat diseñadas para sobreexpresar CD73 humana, con un valor de CI50 medio de 0,235 nM.

5 **6.3.6 Neutralización de la señalización de TGFβ y expresión del antígeno mesenquimal por proteínas de fusión trampa anti-CD73-TGFβ**

[00685] Se evaluó la capacidad de BA035 para alterar la señalización inducida por TGFβ usando un sistema informador expresado ectópicamente y un sistema informador endógeno.

[00686] El informador expresado ectópicamente era un vector que comprendía una
 10 secuencia codificante de luciferasa bajo el control de un elemento de unión SMAD (SBE) en una línea celular HEK293 comercial (BPS Biosciences). Brevemente, se transfectaron células HEK293 con el vector, generando así células informadoras HEK293-SMAD. Las células indicadoras HEK293-SMAD se sembraron a una densidad de $3,5 \times 10^4$ células / pocillo y se cultivaron durante la noche en 100 µl de medio de crecimiento (medio MEM suplementado
 15 con FBS al 10%) en una placa de cultivo de tejidos de fondo plano blanco a 37 ° C % CO₂. El medio de cultivo se reemplazó con medio de ensayo (medio MEM complementado con FBS al 0,5%) y las células se cultivaron durante 4,5 horas a 37°C y CO₂ al 5%. Se añadió a las células una dosis de titulación de ocho puntos de BA035, BA012, trampa de isotipo-TGFβ o anticuerpo de control de isotipo de 0,009 a 20 µg / ml junto con 20 ng / ml de TGFβ humano recombinante
 20 (Peprotech), y las células se incubaron durante la noche a 37 ° C y 5% de CO₂. Para detectar la actividad de luciferasa inducida por TGFβ, se añadieron 100 µl de Bio-Glo™ reconstituido (Promega) a cada pocillo y se registró la luminiscencia usando un instrumento Envision (Perkin Elmer) después de 5 minutos.

[00687] Como se muestra en la Figura 10A, tanto BA035 como la trampa de isotipo-TGFβ, pero no BA012, mostraron una inhibición dependiente de la dosis de la expresión de luciferasa inducida por TGFβ en las células informadoras HEK293-SMAD.

[00688] En un experimento separado, se llevó a cabo una dosis de titulación de once puntos de BA037, BA025, trampa de isotipo-TGFβ o anticuerpo de control de isotipo de 0,0003 a 20 nM por separado para las isoformas de TGFβ1, TGFβ2 y TGFβ3. Por otra parte, se utilizó el
 30 mismo protocolo que el anterior. Como se muestra en las Figuras 17A-17C, tanto BA037 como la trampa de isotipo-TGFβ, pero no BA025, mostraron una inhibición dependiente de la dosis de la expresión de luciferasa inducida por TGFβ para las isoformas β1 y β3, pero no la isoforma β2, en el HEK293- Células informadoras SMAD.

[00689] Para determinar el efecto de estas moléculas sobre la transición epitelial a

mesenquimatoso (EMT) en una línea de células tumorales, se insertó una secuencia de codificación de proteína roja fluorescente (RFP) en el extremo 3' del marco de lectura abierto endógeno del gen de vimentina en el genoma de células A549 de carcinoma de pulmón (ATCC® CCL-185EMT™). Este sistema informador de células A549-Vimentina-RFP permitió la detección de la expresión de vimentina inducida por TGFβ, un marcador de EMT, midiendo la fluorescencia de RFP fusionada al extremo C-terminal de la proteína Vimentina. Brevemente, las células A549-Vimentina-RFP se hicieron crecer en cultivo en suspensión en medio F-12K suplementado con FBS inactivado por calor al 10% a 37 ° C y CO2 al 5%, y se incubaron con 10 µg / ml de BA035, BA012, isotipo-TGFβ, trampa o anticuerpo de control de isotipo en presencia o ausencia de 2,5 ng / ml de TGFβ1 durante 48 horas. Las células se lavaron dos veces en tampón FACS (PBS, EDTA 2 mM, BSA al 0,5%, pH 7,2) y se analizaron usando el citómetro de flujo LSRFortessa™ (BD Biosciences). Los datos de FACS se analizaron utilizando el software FACS DIVA y WEHI Weasel y se trazaron con el software Graphpad Prism.

[00690] Como se muestra en la Figura 10B, BA035 y la trampa del isotipo-TGFβ, pero no el BA012 o el control del isotipo, inhibieron la regulación al alza de los niveles de expresión de vimentina inducida por TGFβ1.

[00691] En un conjunto separado de experimentos, se realizó una dosis de titulación de once puntos de BA037, BA025, trampa de isotipo-TGFβ o anticuerpo de control de isotipo de 0,0028 a 165 nM por separado para las isoformas de TGFβ1, TGFβ2 y TGFβ3. Las células A549-Vimentina-RFP se cultivaron y prepararon como se describe anteriormente. El TGFβ se preincubó con anticuerpos durante 20 minutos a temperatura ambiente (Figura 18A-18F) o 30 minutos a 37 ° C (Figura 18G-18I). A continuación, se añadieron el anticuerpo y el TGFβ a las células y se incubaron durante 24 horas a 37°C. Las células se lavaron con PBS y se analizaron mediante citometría de flujo usando el citómetro de flujo BD FACSCanto II™. Los datos de FACS se analizaron utilizando el software FACS DIVA y se trazaron con el software Graphpad Prism. Como se muestra en las Figuras 18A-18I, BA037 y la trampa del isotipo-TGFβ, pero no el BA025 o el control del isotipo, inhibieron la regulación positiva de los niveles de expresión de vimentina inducida por TGFβ1 y TGFβ3.

30

6.3.7 Internalización de proteínas de fusión de trampa anti-CD73-TGFβ tras la unión de CD73I

[00692] Se analizó la internalización de la trampa anti-CD73-TGFβ, BA037, o anticuerpos de control en células que expresan CD73 usando un ensayo de toxicidad celular. El ensayo de

toxicidad celular empleó un anticuerpo-fármaco conjugado α HFc-NC-DM1 (anticuerpo anti-Fc IgG humano conjugado con maitansinoide DM1 (DM1), con un enlazador no escindible, Moradec LLC), que podría transportar la carga útil citotóxica DM1 al citoplasma tras la internalización. En resumen, una línea de células Jurkat que expresa ectópicamente CD73 humano, como se describe en la Sección 6.1.4, se sembró en placas de cultivo de tejido de fondo plano blanco a una densidad de 1×10^4 por pocillo. Se añadió a las células una dosis de titulación de siete puntos de un anticuerpo anti-CD73 o un anticuerpo de control de isotipo de 0,03 a 20 nM, junto con α HFc-NC-DM1 a la misma concentración que el anticuerpo para alcanzar un volumen final de 100 μ l. /bien. Después de una incubación de 72 horas a 37 ° C y 5% de CO₂, se añadieron 100 μ l de CellTiter Glo® reconstituido (Promega) a cada pocillo. Después de 5 minutos, se registró la luminiscencia, que representa la viabilidad celular, usando un instrumento Envision (Perkin Elmer).

[00693] Como se muestra en las Figuras 19A y 19B, la incubación con BA025 o BA037, junto con α HFc-NC-DM1, provocó la muerte celular de células Jurkat que expresan CD73 de una manera dependiente de la dosis. Como se muestra en las Figuras 19C y 19D, los experimentos de control sin α HFc-NC-DM1 no dieron como resultado la muerte celular. Este resultado mostró que la presencia de un resto de trampa de citocina TGF β en BA037 no afectó a su internalización mediada por CD73.

6.3.8 Las proteínas de fusión trampa anti-CD73-TGF β no activan Fc γ R

[00694] Se midió la activación de los alotipos de alta afinidad Fc γ RIIA (H131) o Fc γ RIIIA (V158) por la proteína de fusión de trampa anti-CD73-TGF β (BA037) o anticuerpos de control, en presencia de células que expresan CD73, utilizando líneas celulares indicadoras Jurkat. diseñado para expresar Fc γ RIIA (H131) o Fc γ RIIIA (V158) junto con un gen indicador de luciferasa 2 (luc2) cadena abajo impulsado por un promotor NFAT. En resumen, se dispensaron 25 μ L de células CHO que expresan CD73 (CHO-CD73, a $2,4 \times 10^6$ células / ml) en los pocillos de una placa de ensayo blanca de fondo plano de 96 pocillos, lo que dio como resultado $6,0 \times 10^4$ células por pocillo. Se añadió a las células una dosis de titulación de diez puntos (de 0,0005 a 10 nM) de BA037, BA025, un anticuerpo de control de isotipo anti-CD73, trampa de isotipo-TGF β o de control de isotipo competente en Fc. A continuación, se añadieron a los pocillos 25 μ l de suspensión de células indicadoras Jurkat Fc γ RIIA (H131) o Jurkat Fc γ RIIIA (V158) (a 6×10^6 células / ml, lo que da como resultado $1,5 \times 10^5$ células / pocillo). Después de una incubación de 20 horas a 37 ° C y 5% de CO₂, se agregaron 75 μ L de CellTiter Glo® reconstituido (Promega) a cada pocillo y se registró la luminiscencia, que representa la viabilidad celular, usando el instrumento Envision (Perkin Elmer) después de 5 minutos. .

[00695] En estos experimentos, BA037 y BA025 no mostraron una activación apreciable de la señalización de FcγRIIA (H131) o FcγRIIIA (V158) de alta afinidad tras el acoplamiento del objetivo (Figuras 20A y 20B, círculos oscuros y cuadrados). Por el contrario, un anticuerpo anti-CD73 competente en Fc (IgG1λ humana) indujo una activación robusta del gen indicador (Figuras 20A y 20B, rombos oscuros). Estos hallazgos son consistentes con BA037 que carece de actividad asociada de células efectoras mediada por Fc.

6.4 Ejemplo 4: Actividades in vivo de anticuerpos anti-CD73

[00696] Este ejemplo describe las actividades antitumorales de los anticuerpos anti-CD73, incluidas las proteínas de fusión trampa anti-CD73-TGFβ, en varios modelos de crecimiento tumoral y metástasis.

6.4.1 Los anticuerpos anti-CD73 alteran el crecimiento tumoral y la metástasis

[00697] La función antitumoral de los anticuerpos anti-CD73 se ensayó en modelos animales de cáncer de colon y metástasis tumoral.

[00698] En el modelo de cáncer de colon, a ratones Balb / c hembra de 6-8 semanas de edad se les inyectaron 5x10⁴ células tumorales CT26 por vía subcutánea el día 0, y se trataron intraperitonealmente con 200 μg de BA012, un anticuerpo que comprende el dominio variable de RA001 y un dominio constante de IgG2a murino que comprende una mutación N297A (denominada RA001-IgG2a-N207A), o un anticuerpo de control de isotipo, los días 5, 9 y 14. El crecimiento del tumor se controló cada dos semanas usando un calibrador digital. El volumen del tumor se calculó usando la fórmula de volumen = altura x ancho x ancho x 0,52.

[00699] Como se muestra en la Figura 11A, BA012 inhibió el crecimiento tumoral de forma más potente que la variante quimérica de RA001.

[00700] En el modelo de metástasis tumoral, se inyectaron intravenosamente ratones Balb / c hembras de 6-8 semanas de edad el día 0 con 2 x 10⁴ células de carcinoma de mama EMT6, que expresaban niveles elevados de CD73 endógeno. Se administraron intraperitonealmente 200 μg de BA012 o anticuerpo de control de isotipo el mismo día (día 0) y el día 3. Los ratones se sacrificaron el día 14 y se evaluaron los nódulos metastásicos en los pulmones lavando los tejidos en PBS, coloreando para contraste con tinta china al 4% y fijación a temperatura ambiente con solución de Fekete (solución acuosa de etanol, formaldehído y ácido acético). Los nódulos metastásicos blancos se contaron manualmente y se trazaron con el software Graphpad Prism.

[00701] Como se muestra en la Figura 11B, BA012 inhibió la invasión de las células tumorales EMT6 en los pulmones en relación con el control de isotipo, lo que sugiere que el

anticuerpo anti-CD73 inhibió la metástasis tumoral.

[00702] En un experimento paralelo, se inyectaron por vía intravenosa ratones Balb / c hembra de 6-8 semanas de edad el día 0 con 2×10^4 células de carcinoma de mama EMT6. Se administraron 400 μg de BA012, 400 μg de anticuerpo de control de isotipo o 492 μg (equimolar a BA012 y de control de isotipo) de BA035 por vía intraperitoneal el mismo día (día 0) y el día 3. Los ratones se sacrificaron el día 14 y los nódulos metastásicos en los pulmones se evaluaron lavando los tejidos en PBS, coloreando para contraste con tinta china al 4% y fijando a temperatura ambiente con solución de Fekete (solución acuosa de etanol, formaldehído y ácido acético). Los nódulos metastásicos blancos se contaron manualmente y se trazaron con el software Graphpad Prism.

[00703] Como se muestra en la Figura 21, BA035 inhibió la invasión de las células tumorales EMT6 en los pulmones en relación con BA012 y el control de isotipo, demostrando que la proteína de fusión trampa anti-CD73-TGF β es capaz de inhibir la metástasis tumoral.

[00704]

6.4.2 Las proteínas de fusión con trampa anti-CD73-TGF β muestran sinergia entre el antagonismo de CD73 y la neutralización de TGF β en la inhibición tumoral

[00705] Las funciones de las proteínas de fusión trampa anti-CD73-TGF β se ensayaron en dos modelos animales de crecimiento tumoral.

[00706] En el primer modelo, se inyectaron ratones hembra C57BL / 6 de 6-8 semanas de edad con 2×10^5 células de cáncer de pulmón de ratón HPV16-E6 / 7 + c-Ha-ras + TC1 por vía subcutánea el día 0. Los ratones portadores de tumores fueron aleatorizados el día 5, y fueron tratados intraperitonealmente con 200 μg de BA012 o anticuerpo de control de isotipo, o 246 μg de BA035 o trampa de isotipo-TGF β los días 5, 8 y 11. El crecimiento del tumor se controló dos veces por semana con un calibrador digital. El volumen del tumor se calculó usando la fórmula de volumen = altura x ancho x ancho x 0,52, y los datos se representaron con el software Graphpad Prism.

[00707] Como se muestra en la Figura 12A, BA035, pero no BA012 o trampa de isotipo-TGF β solo, inhibió el crecimiento tumoral.

[00708] En un segundo modelo, de cáncer de pulmón LLC Lewis, se implantaron ratones C57BL / 6 de tipo salvaje con $0,5 \times 10^6$ células tumorales LLC (ATCC n° CRL-1642). La dosificación comenzó cuando los tumores alcanzaron 75-100 mm³, lo que ocurrió el día 4. A los ratones se les administraron 200 μg de anticuerpo de control de isotipo, 246 μg de BA035, 200 μg de BA012 o 246 μg de trampa de isotipo-TGF β los días 4, 7 y 11. El crecimiento del tumor se controló dos veces por semana usando un calibrador digital. El volumen del tumor se

calculó usando la fórmula de volumen = altura x ancho x ancho x 0,52, y los datos se representaron con el software Graphpad Prism.

[00709] Como se muestra en la Figura 22, BA035 fue más eficaz que BA012 o la proteína de fusión de trampa de isotipo-TGFβ sola para inhibir el crecimiento tumoral.

5 **[00710]** En un tercer modelo, se empleó un modelo de xenoinjerto de ratón Detroit562 que se sabe que es sensible a la inhibición de TGFβ (véase Koopman et al., Cancer Res. 68, 561-569 (2008)). Específicamente, se administraron células tumorales Detroit562 por vía subcutánea a ratones desnudos hembra de 6-8 semanas de edad (Foxn1nu) (1 x 10⁶ células / ratón). Los ratones portadores de tumores (n = 8-10 ratones / grupo) fueron tratados intraperitonealmente (ip) con 246 µg de BA035, 200 µg de BA012, 246 µg de trampa de isotipo-TGFβ, una combinación de 200 µg de BA012 y 246 µg de trampa de isotipo-TGFβ, o 200 µg de control de isotipo los días 8, 11 y 15 después de la implantación del tumor. El crecimiento del tumor se controló dos veces por semana usando un calibrador digital. El volumen del tumor se calculó usando la fórmula volumen = alto x ancho x ancho x 0,52, y los
10 datos se representaron con el software Graphpad Prism.

[00711] Como se muestra en la Figura 23, todos los tratamientos que comprenden un resto de trampa de TGFβ fueron eficaces en este modelo.

[00712] En un cuarto modelo, a ratones Balb / c hembra de 6-8 semanas de edad se les inyectaron 4 x 10⁵ células tumorales EMT6 por vía subcutánea el día 0. Los ratones portadores de tumores se aleatorizaron y trataron intraperitonealmente con 246 µg de BA035, 200 µg de BA012, 246 µg de trampa de isotipo-TGFβ, una combinación de 200 µg de BA012 y 246 µg de trampa de isotipo-TGFβ, o 200 µg de anticuerpo de control de isotipo los días 5, 8 y 11. El crecimiento del tumor se controló dos veces por semana utilizando un calibrador digital. El volumen del tumor se calculó usando la fórmula de volumen = altura x ancho x ancho x 0,52,
20 y los datos se representaron con el software Graphpad Prism.

[00713] Como se muestra en la Figura 12B, cada uno de los tratamientos con anticuerpos, excepto el anticuerpo de control de isotipo, inhibió el crecimiento tumoral. BA035 mostró una actividad antitumoral más fuerte en comparación con la combinación de BA012 y la trampa de isotipo-TGFβ, lo que indica una sinergia entre el antagonismo de CD73 y la neutralización de TGFβ cuando las dos actividades se proporcionan en un solo complejo.
30

6.4.3 Las proteínas de fusión trampa anti-CD73-TGFβ se combinan eficazmente con otros tratamientos contra el cáncer

[00714] La capacidad de las proteínas de fusión de trampa anti-CD73-TGFβ para mejorar la eficacia de otro tratamiento del cáncer se probó en dos modelos animales de crecimiento tumoral.
35

[00715] Usando el modelo EMT6 descrito anteriormente, se trataron grupos de ratones con BA012, control de isotipo, BA035, trampa de isotipo-TGF β o BA012 más trampa de isotipo-TGF β . Los anticuerpos se dosificaron los días 7, 10, 14 y 17. A continuación, los ratones se trataron con doxorrubicina o con un anticuerpo anti-PD-1. Un grupo de control no recibió
5 tratamiento combinado. Se administró doxorrubicina por vía intravenosa los días 7 y 14 a 400 μ g por inyección. Se administró anticuerpo anti-PD-1 (clon RMP1-14, BioXcell) a 200 μ g por inyección en los mismos puntos de tiempo que los otros anticuerpos.

[00716] Como se muestra en las Figuras 24A-24D, todos los tratamientos demostraron algún efecto en la inhibición del crecimiento tumoral en relación con el control del isotipo. En
10 particular, la combinación de BA035 con un anticuerpo anti-PD-1 fue más eficaz para inhibir el crecimiento tumoral que la combinación de anticuerpo anti-PD-1 con BA012 o una trampa de isotipo-TGF β , como se muestra en la Figura 24B. De manera similar, como se muestra en las Figuras 24C y 24D, la combinación de BA035 con doxorrubicina fue más eficaz para inhibir el crecimiento tumoral que la combinación de doxorrubicina con BA012 o una trampa de
15 isotipo-TGF β .

[00717] En un modelo de cáncer de colon, se inyectaron ratones Balb / cJ hembra de 6-8 semanas de edad con 5×10^4 células tumorales CT26 por vía subcutánea el día 0. Una vez que los tumores alcanzaron un tamaño medio de 75-100 mm³, los ratones se trataron intraperitonealmente con 200 μ g BA012, 200 μ g de un anticuerpo de control de isotipo, 246
20 μ g de una trampa de isotipo-TGF β , 246 μ g de BA035 o 200 μ g de BA012 más 200 μ g de una trampa de isotipo-TGF β , los días 13, 17 y 20 después de la inyección de las células CT26. También se inyectaron a los ratones 800 μ g de etopósido por vía intraperitoneal los días 12 y 19. El crecimiento del tumor se controló dos veces por semana usando un calibrador digital. El volumen del tumor se calculó usando la fórmula de volumen = altura x ancho x ancho x 0,52.
25 Los ratones se sacrificaron una vez que los tumores alcanzaron 1000 mm³.

[00718] Como se muestra en la Figura 25, la combinación de BA035 y etopósido fue más eficaz para inhibir el crecimiento tumoral que el etopósido solo, una combinación de etopósido y BA012, o una combinación de etopósido y cualquiera de los controles de isotipo. La proteína de fusión BA035 también fue más eficaz en combinación con etopósido que la combinación
30 de BA012 y una trampa de isotipo-TGF β en combinación con etopósido.

6.5 Ejemplo 5: Mapeo de epítomos

[00719] Este ejemplo describe las partes de CD73 unidas por BA037.

6.5.1 Mapeo de epítomos por HDX

[00720] La interacción de CD73 humano con el fragmento Fab de BA037 (BA037-Fab) se

estudió mediante espectrometría de masas HDX. Estos datos se utilizaron para identificar regiones de epítipo unidas por BA037-Fab en CD73 humano. La interacción de CD73 con BA037-Fab se evaluó utilizando los métodos siguientes.

Interacción de CD73 con Fab CD73 antihumano

- 5 **[00721]** Se incubaron 20 μ L de CD73 humano recombinante (8 μ g; R&D Systems, Cat. No. 5795-EN) o 20 μ L de CD73 humano recombinante y mezcla BA037-Fab (8 μ g: 24 μ g) con 110 μ L de tampón de marcaje de óxido de deuterio (Fosfato de sodio 50 mM, cloruro de sodio 100 mM a pD 7,4) durante 0 segundos, 10 segundos, 60 segundos, 600 segundos o 3600 segundos a 20°C. El intercambio de hidrógeno / deuterio se interrumpió mediante la adición de
10 130 μ L de clorhidrato de guanidina 4 M, tampón TCEP 0,85 M (pH final 2,5) e incubando la mezcla durante 3 min a 20°C. Posteriormente, las muestras apagadas se sometieron a digestión con pepsina / proteasa XIII en columna y análisis LC-MS, como se describe a continuación. Los espectros de masas se registraron en modo MS únicamente.

Digestión con pepsina / proteasa XIII y LC-MS

- 15 **[00722]** Cada mezcla de CD73 o CD73: BA037-Fab se sometió a digestión con pepsina / proteasa XIII en columna usando una columna de pepsina / proteasa XIII empaquetada internamente (p / p, 1: 1), y se analizaron los péptidos resultantes utilizando un sistema UPLC MS compuesto por un UPLC Waters Acquity acoplado a un espectrómetro de masas Q Exactive™ Hybrid Quadrupole-Orbitrap (Thermo). Los péptidos se separaron en una
20 columna C8 de 50 mm x 1 mm con un gradiente de 16,5 min de 2-30% de Disolvente B (0,2% de ácido fórmico en acetonitrilo) en Disolvente A (0,2% de ácido fórmico en agua). La identificación del péptido se realizó mediante la búsqueda de datos de MS / MS frente a la secuencia de CD73 humana con Mascot. La tolerancia de masa para los iones precursores y producto fue de 7 ppm y 0,02 Da, respectivamente.

25 *Análisis de datos HDX*

- [00723]** Los datos de MS sin procesar se procesaron usando el software HDX WorkBench para el análisis de datos de MS de intercambio H / D. Los niveles de deuterio se calcularon usando la diferencia de masa promedio entre el péptido deuterado y su forma nativa (t0). Para el cálculo de la incorporación de deuterio, los espectros de masas para un péptido dado se
30 combinaron a través del pico del cromatograma de iones extraído y se calculó el promedio ponderado m / z. El aumento de masa desde la masa del péptido nativo (minuto 0) hasta la masa promedio ponderada corresponde al nivel de incorporación de deuterio.

Unión al epítipo de Fab CD73 antihumano

- [00724]** Los residuos que contribuyen al epítipo se identificaron mediante la protección del

intercambio de deuterio cuando BA037-Fab se unió a CD73. Todos los residuos de este párrafo están numerados de acuerdo con la SEQ ID NO: 99. Una región que consta de los residuos 144-170 (IKAKGPLASQISGLYLPYKVLPVGDEV, SEQ ID NO: 90) experimentó una fuerte protección contra el deuterio cuando CD73 humano se unió a BA037-Fab. Por tanto, esta
 5 región corresponde a un epítipo o parte del mismo de BA037 en CD73. Otra región que consta de los residuos 195-213 (DEITALQPEVDKLTNLVN, SEQ ID NO: 91) también experimentó una fuerte protección del deuterio cuando el CD73 humano se unió a BA037-Fab. Por tanto, esta región también corresponde a un epítipo o parte del mismo de BA037 en CD73. Ambas regiones (residuos 144-170 y 195-213 de SEQ ID NO: 129) también pueden
 10 considerarse colectivamente un epítipo o una porción del mismo de BA037 en CD73.

6.5.2 Mapeo de epítipos por mutación de CD73

[00725] La unión de BA037 y RA001 a CD73 humano y de ratón se estudió adicionalmente utilizando una serie de mutantes CD73, como se describe en la Tabla 19 y la Tabla 20. Se seleccionaron residuos de CD73 para mutagénesis basándose en las diferencias entre la
 15 secuencia de CD73 humana y de ratón o basándose teniendo en cuenta la estructura cristalina de CD73 humana (referencia PDB No. 4H2F).

[00726] La afinidad de BA037 y el anticuerpo anti-CD73 de referencia, RA001, por proteínas CD73 recombinantes se determinó mediante SPR usando el sistema BIAcore® T200 (GE Healthcare). BA037, RA001, o una proteína de fusión de trampa de TGFβ con control de
 20 isotipo se capturaron en un chip sensor CM5 (GE Healthcare, Series Sensor Chip CM5, 29-1496-03) utilizando IgG antihumano de ratón inmovilizado en chip (GE Healthcare, Human Antibody Kit de captura, BR100839). Específicamente, los anticuerpos diluidos en un tampón de migración (HEPES 10 mM, NaCl 150 mM y tensioactivo P20 al 0,05%) se capturaron utilizando un caudal de 10 µl / min para alcanzar niveles de captura óptimos para el análisis
 25 cinético. La concentración de anticuerpo para alcanzar el nivel de captura óptimo se fijó en 1,5 µg / ml. El CD73 recombinante usado en este ejemplo se produjo internamente. La unión al CD73 de tipo salvaje humano fue similar para el CD73 interno y un CD73 recombinante comercial (Sino Biological Cat. No. 10904-H08H) (datos no mostrados). El CD73 se diluyó en serie y cada mutante se hizo fluir sobre la superficie del chip a un caudal de 50 µl / min con
 30 una fase de asociación de 2 min y una fase de disociación de 10 min. El chip sensor se regeneró entre ciclos con una inyección de 90 segundos de MgCl₂ 3M. Los parámetros cinéticos se determinaron usando un modelo de unión Langmuir 1: 1 usando el software de evaluación BIAcore® T200 Evaluation v3.0 (GE Healthcare).

[00727] El efecto de las mutaciones de CD73 sobre la unión máxima de BA037 y RA001 se

muestra en la Tabla 19. La unión máxima se midió a 60 nM. Y161A mostró una pérdida parcial de la unión de BA037, al igual que una mutación cuádruple de humano a ratón (Y158F, Y161S, P165S, D168G). Cuando los mismos cuatro residuos se mutaron a alanina (Y158A, Y161A, P165A, D168A), se perdió la unión adicional de BA037. Por el contrario, RA001 se unió a niveles similares a todos los mutantes CD73 probados.

[00728] De acuerdo con las observaciones anteriores, no se observó una unión significativa al CD73 de ratón de tipo salvaje para BA037. Sin embargo, la mutación de los residuos 163, 167 y 170 en CD73 de ratón a los residuos humanos correspondientes (es decir, las mutaciones de ratón a humano S163Y, S167P, G170D) dio como resultado la restauración de la unión de BA037 (como se muestra en la Tabla 19) o restauración parcial de la afinidad de unión (como se muestra en la Tabla 20). Además, la mutación de los residuos 109, 111, 154, 160, 163, 167, 170, 200, 298 y 299 en CD73 de ratón a los residuos humanos correspondientes (es decir, las mutaciones de ratón a humano I109A, G111R, H154S, F160Y, S163Y, S167P, G170D, S200T, D298E, K299R) dieron como resultado la restauración tanto de la unión (como se muestra en la Tabla 19) como de la afinidad de unión (como se muestra en la Tabla 20). RA001 se unió a CD73 de ratón a niveles similares a CD73 humano. El efecto de las mutaciones de CD73 sobre la unión máxima de BA037 y RA001 se muestra en la Tabla 19. La unión máxima se midió a 60 nM. Y161A mostró una pérdida parcial de la unión de BA037, al igual que una mutación cuádruple de humano a ratón (Y158F, Y161S, P165S, D168G). Cuando los mismos cuatro residuos se mutaron a alanina (Y158A, Y161A, P165A, D168A), se perdió la unión adicional de BA037. Por el contrario, RA001 se unió a niveles similares a todos los mutantes CD73 probados.

Tabla 19. Efecto de las mutaciones de CD73 sobre la unión máxima de BA037 y RA001

Variante CD73	SEC ID NO:	BA037	RA001
PESO humano	99	+	+
Y158A	59	+	+
Y161A	60	+/-	+
T198A	61	+	+
K274A	62	+	+
S269A	132	+	+
Y158A, Y161A, P165A, D168A	133	-	+
Y158F, Y161S, P165S, D168G (Humano a ratón)	134	+/-	+

S152H, Y158F, Y161S (Humano a ratón)	135	+	+
P165S, D168G (Humano a ratón)	136	+	+
PESO del ratón	102	-	+
I109A, G111R, H154S, F160Y, S163Y, S167P, G170D, S200T, D298E, K299R (ratón a humano)	137	+	+
S163Y, S167P, G170D (ratón a humano)	138	+	+

+: al menos 70% en relación con la unión máxima a CD73 de tipo salvaje humano

+/-: menos del 70% y al menos el 20% en relación con la unión máxima a CD73 de tipo salvaje humano

-: menos del 20% en relación con la unión máxima a CD73 de tipo salvaje humano

5

[00729] El efecto de las mutaciones de CD73 anteriores sobre la unión de KA (afinidad de unión) de BA037 y RA001 se muestra en la Tabla 20. En este experimento, se determinó que los valores de KA para la unión de BA037 y RA001 a CD73 humano de tipo salvaje eran $7.35 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ y $3.21 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$, respectivamente.

10 **Tabla 20. Efecto de las mutaciones de CD73 sobre la unión de KA de BA037 y RA001**

Variante CD73	SEC ID NO:	BA037	RA001
PESO humano	99	+	+
Y158A	59	+/-	+
Y161A	60	-	+
T198A	61	+	+
K274A	62	+	+
S269A	132	+	+
Y158A, Y161A, P165A, D168A (Humano a ratón)	133	-	+
Y158F, Y161S, P165S, D168G (Humano a ratón))	134	-	+
S152H, Y158F, Y161S (Humano a ratón))	135	-	+

