



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

(21) BR 112021009325-7 A2



(22) Data do Depósito: 13/11/2019

(43) Data da Publicação Nacional: 14/09/2021

(54) **Título:** ANTICORPO MONOCLONAL, OU FRAGMENTO DE LIGAÇÃO AO ANTÍGENO DO MESMO; ANTICORPO BIESPECÍFICO; MÉTODO PARA PREVENIR OU TRATAR UM CÂNCER SUSCETÍVEL EM UM SER HUMANO; MÉTODO DE ENSAIO DE EXPRESSÃO DE SIRP₂ EM CÉLULAS TUMORAIS E/OU IMUNES; E; COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA

(51) **Int. Cl.:** A61K 39/00; A61K 39/395; C12P 21/08.

(30) **Prioridade Unionista:** 06/11/2019 US 62/931,746; 14/08/2019 US 62/886,872; 14/11/2018 US 62/767,509; 19/03/2019 US 62/820,718.

(71) **Depositante(es):** ARCH ONCOLOGY, INC..

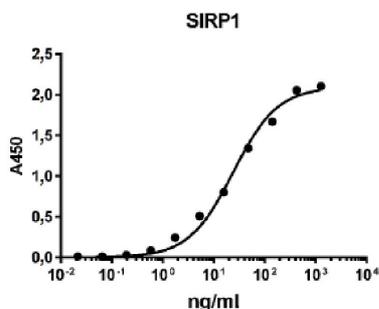
(72) **Inventor(es):** ROBYN PURO; PAMELA T. MANNING; ROBERT W. KARR; RONALD R. HIEBSCH; BENJAMIN J. CAPOCCIA; GABRIELA ANDREJEVA.

(86) **Pedido PCT:** PCT US2019061278 de 13/11/2019

(87) **Publicação PCT:** WO 2020/102422 de 22/05/2020

(85) **Data da Fase Nacional:** 13/05/2021

(57) **Resumo:** ANTICORPO MONOCLONAL, OU FRAGMENTO DE LIGAÇÃO AO ANTÍGENO DO MESMO; ANTICORPO BIESPECÍFICO; MÉTODO PARA PREVENIR OU TRATAR UM CÂNCER SUSCETÍVEL EM UM SER HUMANO; MÉTODO DE ENSAIO DE EXPRESSÃO DE SIRP₂ EM CÉLULAS TUMORAIS E/OU IMUNES; E; COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA. Trata-se de anticorpos monoclonais anti-SIRPa (mAbs anti-SIRPa), incluindo anticorpos SIRPa multiespecíficos, que são dotados de perfis funcionais distintos, assim como composições e métodos relacionados de uso de mAbs anti-SIRPa como terapêutica para a prevenção e tratamento de cânceres sólidos e hematológicos. Também são fornecidas sequências de aminoácidos de anticorpos monoclonais anti-SIRPa exemplificativas.



ANTICORPO MONOCLONAL, OU FRAGMENTO DE LIGAÇÃO AO ANTÍGENO DO MESMO; ANTICORPO BIESPECÍFICO; MÉTODO PARA PREVENIR OU TRATAR UM CÂNCER SUSCETÍVEL EM UM SER HUMANO; MÉTODO DE ENSAIO DE EXPRESSÃO DE SIRPA EM CÉLULAS TUMORAIS E/OU IMUNES; E; COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA

CAMPO DA REVELAÇÃO

[001] Este pedido reivindica o benefício de prioridade dos pedidos provisórios US nºs 62/767.509, depositado em 14 de novembro de 2018, 62/820.718, depositado em 19 de março de 2019, 62/886.872, depositado em 14 de agosto de 2019, e 62/931.746, depositado em 6 de novembro de 2019, cujas revelações estão aqui incorporadas a título de referência, como se estivessem descritas no presente documento em sua totalidade.

[002] Esta revelação se refere ao campo de imunoterapia. A presente revelação fornece anticorpos anti-SIRP α (anti-SIRP α), que prejudicam a interação entre SIRP α e CD47, intensificam a fagocitose de células tumorais, provocam a imunomodulação de respostas imunes, e métodos para gerar anticorpos anti-SIRP α e usar anticorpos anti-SIRP α como agentes terapêuticos para a prevenção e o tratamento de cânceres hematológicos e sólidos.

ANTECEDENTES

[003] Anticorpos terapêuticos que têm como alvo a imunidade adaptativa, incluindo os pontos de verificação de células T, PD-1, PD-L1 e CTLA-4, para intensificar a atividade citotóxica da resposta imune de células T elevou a perspectiva de remissão de longo prazo ou até mesmo a cura para pacientes com doenças metastáticas (Hodi 2010, McDermott 2015). Apesar dos resultados positivos, ainda há uma população significativa

de pacientes que não responde a esses inibidores de ponto de verificação (resistência primária) ou aqueles que respondem, mas eventualmente desenvolvem progressão da doença (resistência adquirida) (Pitt 2016, Restifo 2016, Sharma 2017). Estudos recentes sugerem que mecanismos de resistência podem ser tanto intrínseco às células tumorais, incluindo uma carência de proteínas de antígeno tumoral exclusivas ou inibição de apresentação de antígeno tumoral, como extrínsecas às células tumorais, envolvendo a ausência de células T infiltrantes, pontos de verificação inibitórios redundantes e/ou a presença de células imunossupressoras no microambiente tumoral (Sharma 2017). Mesmo em tumores considerados sensíveis aos inibidores de ponto de verificação, ou quando se combina agentes anti-CTLA-4 e anti-PD-1/PDL-1, aproximadamente 50% dos pacientes não experimentam encolhimento do tumor, e a duração média de tratamento ou sobrevivência livre de progressão para todos os pacientes tratados permanecem relativamente curta, em torno de 2-5 meses (Kazandjian, 2016). Além disso, diversos dos tumores sólidos mais predominantes e a maioria das malignidades hematológicas mostraram resultados decepcionantes com esses inibidores de ponto de verificação. Em particular, câncer de mama positivo para receptor hormonal, câncer colorretal (sem instabilidade de microssatélites) e câncer de próstata não parecem ser sensíveis a esse tipo de manipulação imunológica e poderiam se beneficiar de uma abordagem imunoterápica diferente (Le 2015, Dirix 2015, Topalian 2012, Graff 2016). Essas constatações destacaram a necessidade de abordagens alternativas ou sinérgicas que têm como alvo pontos de verificação adicionais para ativar a resposta imune inata, além da resposta imune adaptativa para melhorar ainda mais os

resultados clínicos. Diversos pontos de verificação da resposta imune inata estão presentes em células tumorais e em células mieloides (macrófagos, células dendríticas, células supressoras derivadas de monócitos, granulócitos) que são importantes componentes celulares do microambiente tumoral que influencia na progressão tumoral, metástase e resultado geral (Barclay e van den Berg 2014, Yanagita 2017).

[004] Proteína Reguladora de Sinal (SIRP)- α ou SIRP α , também conhecida como CD172a, BIT ou SHPS-1, é um membro da família de receptores emparelhados SIRP de proteínas SIRP intimamente relacionadas. A SIRP α é expressa principalmente por células hematopoiéticas, incluindo macrófagos, células dendríticas e granulócitos, e é também expressa em neurônios, especialmente no cérebro, glia, células musculares lisas e células endoteliais e algumas tumorais (Barclay e van den Berg 2014). A SIRP α é uma proteína transmembranar com um domínio extracelular que contém três domínios semelhantes a Ig e uma região citoplasmática que contém motivos inibidores de imunorreceptor baseados em tirosina (ITIMs). O gene que codifica a SIRP α humana é polimórfico com duas variantes comuns identificadas, SIRP α V1 e SIRP α V2, com mudanças nos aminoácidos de superfície, mas que não parecem afetar a ligação a seu ligante, agrupamento de diferenciação 47 (CD47) (Barclay e van den Berg 2014). A interação de SIRP α , expressa por células mieloides, com CD47, expresso ou superexpresso em muitas células tumorais, bem como em células normais, é um importante ponto de verificação imune da resposta inata que regula funções mieloides que incluem atividades de adesão, migração, ativação e inibitórias. A interação CD47/SIRP α regula a fagocitose de macrófagos e células dendríticas de células-alvo, enviando um

sinal inibitório de "não me coma" ao fagócito. A ligação de CD47 à SIRP α inicia uma cascata de sinalização inibitória que resulta na inibição de fagocitose após a fosforilação de seus ITIMs citoplasmáticos (Oldenborg 2000, Oldenborg 2001, Okazawa 2005), recrutamento e ligação de SHP-1 e SHP-2, proteína tirosina fosfatase contendo domínio de homologia Src (Veillette 1998, Oldenborg 2001), inibição de miosina não muscular IIA e, finalmente, função fagocítica (Tsai e Discher 2008, Barclay e van den Berg 2014, Murata 2014, Veillette e Chen 2018, Matazaki 2009). Um corolário importante da ação de CD47 como um sinal de "não me coma" é seu papel como um "automarcador". Isso fornece um obstáculo significativo para a autofagocitose e bloqueia uma resposta autoimune subsequente (Oldenborg, 2002, Oldenborg 2004). Células cancerígenas usam CD47 para mascararem sua "identidade", evitando, conseqüentemente, sistemas imunes tanto inatos como adaptativos. O bloqueio da interação de SIRP α em células imunes inatas, como macrófagos e células dendríticas, com CD47 em células tumorais surgiu como um alvo viável na terapia oncológica. Dados pré-clínicos indicaram que, de modo similar aos anticorpos anti-CD47, os anticorpos anti-SIRP α que bloqueiam a interação SIRP α /CD47 exibem eficácia antitumoral em modelos de tumor de camundongo, como monoterapia ou em combinação com outros agentes (Gauttier, 2017; Ring, 2017; Yanigita, 2017; Poirier, 2018; e Guattier, 2018). Sobretudo, a geração de uma resposta imune adaptativa, além da resposta imune inata após a interrupção da interação SIRP α /CD47, parece ser fundamental para obter uma resposta antitumoral robusta (Tseng 2013, Li 2015, Xu 2017).

[005] A expressão de SIRP α em células DC e sua

interação com CD47 em células T parece ser importante na indução da resposta imune adaptativa. Foi relatado que o bloqueio da interação SIRP α /CD47 afeta a capacidade de DCs para estimular a resposta de células T CD8+ específicas de antígeno e isso estava correlacionado com uma resposta mediada por DC intensificada ao DNA tumoral (Liu 2015, Xu 2017).

[006] Um outro membro da família SIRP de receptores emparelhados, SIRP- γ , que é seletivamente expresso na superfície de células T humanas (não de roedores), tem uma curta região citoplasmática que consiste em 4 aminoácidos. SIRP- γ também se liga a CD47 e parece ser importante para mediar a adesão entre células T e APC para funções de células T, incluindo proliferação e ativação (Barclay e van den Berg 2014; e Piccio, 2005). Dessa forma, o bloqueio da interação entre SIRP α e CD47, mas não entre SIRP- γ e CD47, pode fornecer uma vantagem para proteger a função de células T.

[007] A presente revelação descreve mAbs anti-SIRP α com perfis funcionais distintos. Os anticorpos da revelação são úteis em vários métodos terapêuticos para tratar doenças e afecções associadas à SIRP α em seres humanos, incluindo o uso de mAbs anti-SIRP α como terapêutica para a prevenção e o tratamento de cânceres sólidos e hematológicos. Os anticorpos da revelação são também úteis como diagnósticos para determinar o nível de expressão de anti-SIRP α em amostras de tecido. Modalidades da revelação incluem anticorpos isolados e fragmentos de ligação ativos imunológicos dos mesmos; composições farmacêuticas que compreendem um ou mais dos anticorpos monoclonais anti-SIRP α , de preferência, formas quiméricas ou humanizadas dos ditos anticorpos; e métodos de uso terapêutico de tais anticorpos monoclonais anti-SIRP α .

[008] As modalidades da revelação incluem os mAbs, ou fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos, que são definidos por referência às características estruturais específicas, isto é, sequências de aminoácidos especificadas das CDRs ou domínios variáveis de cadeia pesada e leve inteiros ou cadeias pesadas e leves inteiras. Todos esses anticorpos revelados no presente documento se ligam à SIRP α , à SIRP γ ou à SIRP α e SIRP γ .

[009] Os anticorpos monoclonais, ou fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos, podem compreender pelo menos uma, normalmente pelo menos três sequências de CDR conforme fornecido no presente documento, normalmente em combinação com sequências framework de uma região variável humana ou como um peptídeo de CDR isolado. Em algumas modalidades, um anticorpo compreende pelo menos uma cadeia leve que compreende as três sequências de CDR de cadeia leve fornecidas no presente documento situada em um framework de região variável, que pode ser, sem limitação, um framework de região variável murino ou humano, e pelo menos uma cadeia pesada que compreende as três sequências de CDR de cadeia pesada fornecidas no presente documento situada em uma framework de região variável, que pode ser, sem limitação, um framework de região variável humano ou murino.

[010] Em algumas modalidades, as combinações de 6 CDRs incluem, porém sem limitação, as combinações de CDR1 de cadeia pesada variável (HCDR1), CDR2 de cadeia pesada variável (HCDR2), CDR3 de cadeia pesada variável (HCDR3), CDR1 de cadeia leve variável (LCDR1), CDR2 de cadeia leve variável (LCDR2) e CDR3 de cadeia leve variável (LCDR3) selecionadas dentre:

[011] HCDR1 que compreende a SEQ ID NO:33, HCDR2

que compreende a SEQ ID NO:34, HCDR3 que compreende a SEQ ID NO:35, LCDR1 que compreende a SEQ ID NO:1, LCDR2 que compreende a SEQ ID NO:2, LCDR3 que compreende a SEQ ID NO:3;

[012] HCDR1 que compreende a SEQ ID NO:36, HCDR2 que compreende a SEQ ID NO:37, HCDR3 que compreende a SEQ ID NO:38, LCDR1 que compreende a SEQ ID NO:4, LCDR2 que compreende a SEQ ID NO:5, LCDR3 que compreende a SEQ ID NO:6;

[013] HCDR1 que compreende a SEQ ID NO:39, HCDR2 que compreende a SEQ ID NO:40, HCDR3 que compreende a SEQ ID NO:41, LCDR1 que compreende a SEQ ID NO:7, LCDR2 que compreende a SEQ ID NO:8, LCDR3 que compreende a SEQ ID NO:9;

[014] HCDR1 que compreende a SEQ ID NO:42, HCDR2 que compreende a SEQ ID NO:43, HCDR3 que compreende a SEQ ID NO:44, LCDR1 que compreende a SEQ ID NO:10, LCDR2 que compreende a SEQ ID NO:11, LCDR3 que compreende a SEQ ID NO:12;

[015] HCDR1 que compreende a SEQ ID NO:45, HCDR2 que compreende a SEQ ID NO:46, HCDR3 que compreende a SEQ ID NO:47, LCDR1 que compreende a SEQ ID NO:13, LCDR2 que compreende a SEQ ID NO:14, LCDR3 que compreende a SEQ ID NO:15;

[016] HCDR1 que compreende a SEQ ID NO:48, HCDR2 que compreende a SEQ ID NO:49, HCDR3 que compreende a SEQ ID NO:50, LCDR1 que compreende a SEQ ID NO:16, LCDR2 que compreende a SEQ ID NO:17, LCDR3 que compreende a SEQ ID NO:18;

[017] HCDR1 que compreende a SEQ ID NO:51, HCDR2 que compreende a SEQ ID NO:52, HCDR3 que compreende a SEQ ID NO:53, LCDR1 que compreende a SEQ ID NO:19, LCDR2 que compreende a SEQ ID NO:20, LCDR3 que compreende a SEQ ID NO:21.

[018] HCDR1 que compreende a SEQ ID NO:54, HCDR2 que compreende a SEQ ID NO:55, HCDR3 que compreende a SEQ ID NO:56, LCDR1 que compreende a SEQ ID NO:22, LCDR2 que

compreende a SEQ ID NO:23, LCDR3 que compreende a SEQ ID NO:24.

[019] HCDR1 que compreende a SEQ ID NO:57, HCDR2 que compreende a SEQ ID NO:58, HCDR3 que compreende a SEQ ID NO:59, LCDR1 que compreende a SEQ ID NO:25, LCDR2 que compreende a SEQ ID NO:26, LCDR3 que compreende a SEQ ID NO:27.

[020] HCDR1 que compreende a SEQ ID NO:60, HCDR2 que compreende a SEQ ID NO:61, HCDR3 que compreende a SEQ ID NO:62, LCDR1 que compreende a SEQ ID NO:28, LCDR2 que compreende a SEQ ID NO:29, LCDR3 que compreende a SEQ ID NO:30.

[021] HCDR1 que compreende a SEQ ID NO:42, HCDR2 que compreende a SEQ ID NO:43, HCDR3 que compreende a SEQ ID NO:44, LCDR1 que compreende a SEQ ID NO:10, LCDR2 que compreende a SEQ ID NO:31, LCDR3 que compreende a SEQ ID NO:12.

[022] HCDR1 que compreende a SEQ ID NO:42, HCDR2 que compreende a SEQ ID NO:43, HCDR3 que compreende a SEQ ID NO:44, LCDR1 que compreende a SEQ ID NO:10, LCDR2 que compreende a SEQ ID NO:31, LCDR3 que compreende a SEQ ID NO:32.

[023] HCDR1 que compreende a SEQ ID NO:57, HCDR2 que compreende a SEQ ID NO:58, HCDR3 que compreende a SEQ ID NO:63, LCDR1 que compreende a SEQ ID NO:25, LCDR2 que compreende a SEQ ID NO:26, LCDR3 que compreende a SEQ ID NO:27.

[024] Em algumas modalidades, os anticorpos anti-SIRP α incluem anticorpos, ou fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos, que compreendem um domínio variável de cadeia pesada (V_H) que tem uma sequência de aminoácidos selecionada dentre as sequências de aminoácidos de: SEQ ID NO:81, SEQ ID NO:82, SEQ ID NO:83, SEQ ID NO:84, SEQ ID NO:85, SEQ ID NO:86, SEQ ID NO:87, SEQ ID NO:88, SEQ ID NO:89, SEQ ID NO:90, SEQ ID NO:91, SEQ ID NO:92, SEQ ID NO:93, SEQ ID NO:94, SEQ ID NO:95, SEQ ID NO:96 e SEQ ID NO:97 e as sequências

de aminoácidos que exibem pelo menos 85%, 90%, 95%, 97%, 98% ou 99% de identidade de sequência com uma das sequências recitadas. Alternativa ou adicionalmente, os anticorpos anti-SIRP α , incluindo anticorpos ou fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos, podem compreender um domínio variável de cadeia leve (V_L) que tem uma sequência de aminoácidos selecionada dentre as sequências de aminoácidos de SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:67, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:69, SEQ ID NO:70, SEQ ID NO:71, SEQ ID NO:72, SEQ ID NO:73, SEQ ID NO:74, SEQ ID NO:75, SEQ ID NO:76, SEQ ID NO:77, SEQ ID NO:78, SEQ ID NO:79 e SEQ ID NO:80 e as sequências de aminoácidos que exibem pelo menos 85%, 90%, 95%, 97%, 98% ou 99% de identidade de sequência com uma das sequências recitadas.

[025] Embora todos os emparelhamentos possíveis de domínios V_H e domínios V_L selecionados dentre os grupos de sequências de domínio V_H e domínio V_L listados acima sejam permissíveis, certas combinações de domínios V_H e V_L são reveladas. Consequentemente, anticorpos anti-SIRP α , ou fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos, são aqueles que compreendem uma combinação de um domínio variável de cadeia pesada (V_H) e um domínio variável de cadeia leve (V_L), em que a combinação é selecionada dentre:

- i. um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:81 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:64;
- ii. um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:82 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a

- sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:65;
- iii. um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:83 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:66;
 - iv. um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:84 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:67;
 - v. um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:85 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:68;
 - vi. um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:86 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:69;
 - vii. um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:87 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:70;
 - viii. um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:88 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:71;
 - ix. um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:89 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:72;
 - x. um domínio variável de cadeia pesada que compreende

- a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:90 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:73;
- xi. um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:91 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:74;
- xii. um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:91 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:75;
- xiii. um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:91 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:76;
- xiv. um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:92 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:74;
- xv. um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:92 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:75;
- xvi. um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:92 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:76;
- xvii. um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:93 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a

- sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:74;
- xviii. um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:93 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:75;
- xix. um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:93 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:76;
- xx. um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:94 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:74;
- xxi. um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:94 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:75;
- xxii. um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:94 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:76;
- xxiii. um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:84 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:77;
- xxiv. um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:95 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:78;
- xxv. um domínio variável de cadeia pesada que compreende

- a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:95 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:79;
- xxvi. um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:95 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:80;
- xxvii. um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:96 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:78;
- xxviii. um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:96 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:79;
- xxix. um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:96 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:80;
- xxx. um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:97 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:78;
- xxxi. um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:97 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:79;
- xxxii. um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:97 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a

seqüência de aminoácidos de SEQ ID NO:80; e
xxxiii. um domínio variável de cadeia pesada que compreende a seqüência de aminoácidos de SEQ ID NO:89 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a seqüência de aminoácidos de SEQ ID NO:72.

[026] Em algumas modalidades, os anticorpos anti-SIRP α , ou fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos, podem também compreender uma combinação de um domínio variável de cadeia pesada e um domínio variável de cadeia leve, em que o domínio variável de cadeia pesada compreende uma seqüência de V_H com pelo menos 85% de identidade de seqüência, ou pelo menos 90% de identidade de seqüência, ou pelo menos 95% de identidade de seqüência, ou pelo menos 97%, 98% ou 99% de identidade de seqüência com as seqüências de aminoácidos de cadeia pesada mostradas acima em (i) a (xxxiii) e/ou o domínio variável de cadeia leve compreende uma seqüência de V_L com pelo menos 85% de identidade de seqüência, ou pelo menos 90% de identidade de seqüência, ou pelo menos 95% de identidade de seqüência, ou pelo menos 97%, 98% ou 99% de identidade de seqüência com as seqüências de aminoácidos de cadeia leve mostradas acima em (i) a (xxxiii). Os emparelhamentos específicos de V_H e V_L ou combinações em partes (i) a (xxxiii) podem ser preservados para anticorpos anti-SIRP α que têm seqüências de domínio V_H e V_L com uma porcentagem específica de identidade de seqüência com essas seqüências de referência.

[027] Para todas as modalidades, os domínios variáveis de cadeia pesada e/ou cadeia leve dos anticorpos ou fragmentos de ligação ao antígeno são definidos por uma porcentagem específica de identidade de seqüência com uma seqüência de referência, os domínios V_H e/ou V_L podem reter

sequências de CDR idênticas àsquelas presentes na sequência de referência, de modo que a variação esteja presente apenas nas regiões de framework.

[028] Em uma outra modalidade, os anticorpos anti-SIRP α , ou fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos, são aqueles que compreendem uma combinação de uma cadeia pesada (HC) e uma cadeia leve (LC), em que a combinação é selecionada dentre:

- i. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:109 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:98;
- ii. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:110 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:99;
- iii. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:111 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:100.
- iv. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:112 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:101;
- v. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:112 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:102;
- vi. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:112 e uma cadeia leve que

- compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:103;
- vii. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:113 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:101;
 - viii. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:113 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:102;
 - ix. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:113 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:103;
 - x. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:114 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:101;
 - xi. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:114 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:102;
 - xii. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:114 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:103;
 - xiii. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:115 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:101;

- xiv. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:115 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:102;
- xv. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:115 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:103;
- xvi. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:116 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:104;
- xvii. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:117 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:105;
- xviii. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:117 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:106;
- xix. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:117 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:107;
- xx. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:118 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:105;
- xxi. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:118 e uma cadeia leve que

- compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:106;
- xxii. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:118 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:107;
- xxiii. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:119 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:105;
- xxiv. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:119 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:106;
- xxv. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:119 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:107; e
- xxvi. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:120 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:108.

[029] Várias formas dos mAbs anti-SIRP α são reveladas. Por exemplo, os mAbs anti-CD47 podem ser anticorpos humanizados de comprimento total com frameworks humanos e regiões constantes dos isotipos IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, mais particularmente IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, e, em alguns casos, com várias mutações para alterar a função do receptor Fc ou impedir a troca do braço Fab ou fragmento de anticorpo, por exemplo, um fragmento F(ab')₂, um fragmento F(ab), um fragmento

Fv de cadeia única (scFv), etc., conforme revelado no presente documento.

[030] Em algumas modalidades, os mAbs anti-SIRP α ou fragmento de ligação ao antígeno dos mesmos compreendem um isotipo IgG selecionado dentre IgG1, IgG1-N297Q, IgG2, IgG4, IgG4 S228P, IgG4 PE e variantes dos mesmos.

[031] Em algumas modalidades, os mAbs anti-SIRP α ou fragmento de ligação ao antígeno dos mesmos se ligam à SIRP γ humana além de à SIRP α humana.

[032] Em algumas modalidades, os mAbs anti-SIRP α ou fragmento de ligação ao antígeno dos mesmos se ligam seletivamente à SIRP α humana.

[033] Em algumas modalidades, os mAbs anti-SIRP α ou fragmento de ligação ao antígeno dos mesmos aumentam a fagocitose de células tumorais humanas.

[034] Em algumas modalidades, os mAbs anti-SIRP α , conforme revelado no presente documento, são anticorpos multiespecíficos que se ligam especificamente à SIRP α e pelo menos a um segundo antígeno, em que o segundo antígeno é um marcador de uma célula que expressa CD47.

[035] Em algumas modalidades, o segundo antígeno do anticorpo multiespecífico é selecionado dentre CD19, CD20, CD22, CD24, CD25, CD30, CD33, CD40, CD44, HER2, CD52, CD56, CD70, CD96, CD97, CD99, CD123, CD279 (PD-1), CD117, C-Met, PTHR2, EGFR, RANKL, SLAMF7, PD-L1, CD38, CD19/CD3, HAVCR2 (TIM3) e GD2.

[036] Em algumas modalidades, os mAbs anti-SIRP α ou fragmento de ligação ao antígeno dos mesmos aumentam a fagocitose de células tumorais humanas e são administrados em combinação com um anticorpo monoclonal que tem como alvo um

antígeno em uma célula tumoral.

[037] Em algumas modalidades, os mAbs anti-SIRP α ou fragmento de ligação ao antígeno dos mesmos aumentam a fagocitose de células tumorais humanas e são administrados em combinação com um anticorpo monoclonal opsonizante que tem como alvo um antígeno em uma célula tumoral, em que o anticorpo monoclonal opsonizante é escolhido dentre rituximabe (anti-CD20), trastuzumabe (anti-HER2), alentuzumabe (anti-CD52), cetuximabe (anti-EGFR), panitumumabe (anti-EGFR), ofatumumabe (anti-CD20), denosumabe (anti-RANKL), pertuzumabe (anti-HER2), panitumumabe (EGFR), pertuzumabe (HER2), elotuzumabe (SLAMF7), atezolizumabe (anti-PD-L1), avelumabe (anti-PD-L1), durvalumabe (anti-PD-L1), necitumumabe (anti-EGFR), daratumumabe (anti-CD38), obinutuzumabe (anti-CD20), blinatumomabe (anti-CD19/CD3), dinutuximabe (anti-GD2).

[038] Em algumas modalidades, o anticorpo monoclonal opsonizante tem como alvo CD20, EGFR e PD-L1.

[039] Em algumas modalidades, os mAbs anti-SIRP α ou fragmento de ligação ao antígeno dos mesmos exibem atividade antitumoral.

[040] Em algumas modalidades, os mAbs anti-SIRP α ou fragmento de ligação ao antígeno dos mesmos são administrados em combinação com um anticorpo anti-CD47, em que o anticorpo anti-CD47 é descrito na patente US nº 10.239.945, que está aqui incorporada a título de referência em sua totalidade.

[041] Em algumas modalidades, os mAbs anti-SIRP α ou fragmento de ligação ao antígeno dos mesmos são administrados em combinação com um anticorpo anti-EGFR.

[042] Em algumas modalidades, os mAbs anti-SIRP α

ou fragmento de ligação ao antígeno dos mesmos são administrados em combinação com um anticorpo anti-PD-1.

[043] Em algumas modalidades, os mAbs anti-SIRP α ou fragmento de ligação ao antígeno dos mesmos são administrados em combinação com um anticorpo anti-CTLA-4.

[044] Em algumas modalidades, a revelação fornece uma composição farmacêutica que compreende um ou mais dos mAbs anti-SIRP α ou fragmentos de ligação ao antígeno revelados no presente documento, opcionalmente em formas quiméricas ou humanizadas, e um carreador, diluente ou excipiente farmacológica ou fisiologicamente aceitável.

[045] Em algumas modalidades, os mAbs anti-SIRP α ou fragmento de ligação ao antígeno dos mesmos se destinam ao uso em terapia humana.

[046] Em algumas modalidades, os mAbs anti-SIRP α ou fragmento de ligação ao antígeno dos mesmos se destinam ao uso na prevenção ou tratamento de câncer em um paciente humano.

[047] Anteriormente à presente revelação, havia uma necessidade de identificar mAbs anti-SIRP α que possuíssem os perfis funcionais conforme descrito no presente documento. Os mAbs anti-SIRP α da presente revelação exibem uma combinação de propriedades que tornam os mAbs particularmente vantajosos para uso em terapia humana, particularmente na prevenção e/ou tratamento de cânceres sólidos e hematológicos.

[048] Em algumas modalidades, o câncer é selecionado dentre leucemia, um linfoma, mieloma múltiplo, câncer de ovário, câncer de mama, câncer endometrial, câncer de cólon (câncer colorretal), câncer retal, câncer de bexiga, câncer urotelial, câncer de pulmão (câncer de pulmão de células não pequenas, adenocarcinoma do pulmão, carcinoma de células

escamosas do pulmão), câncer brônquico, câncer ósseo, câncer de próstata, câncer pancreático, câncer gástrico, carcinoma hepatocelular, câncer de vesícula biliar, câncer de ducto biliar, câncer de esôfago, carcinoma de células renais, câncer de tireoide, carcinoma de células escamosas da cabeça e pescoço (câncer de cabeça e pescoço), câncer testicular, câncer da glândula endócrina, câncer da glândula adrenal, câncer da glândula pituitária, câncer da pele, câncer dos tecidos moles, câncer dos vasos sanguíneos, câncer cerebral, câncer dos nervos, câncer de olhos, câncer de meninges, câncer de orofaringe, câncer de hipofaringe, câncer de colo do útero e câncer de útero, glioblastoma, meduloblastoma, astrocitoma, glioma, meningioma, gastrinoma, neuroblastoma, melanoma, síndrome mielodisplásica e um sarcoma.

[049] Em algumas modalidades, a leucemia é selecionada de leucemia é selecionada dentre o grupo que consiste em mastocitose sistêmica, leucemia linfocítica aguda (linfoblástica) (ALL), ALL de células T, leucemia mieloide aguda (AML), leucemia mielogênica, leucemia linfocítica crônica (CLL), leucemia mieloide crônica (CML), distúrbio/neoplasma mieloproliferativo, síndrome mielodisplásica, leucemia de células monocíticas e leucemia de células plasmáticas; em que o dito linfoma é selecionado dentre o grupo que consiste em linfoma histiocítico e linfoma de células T, linfomas de células B, incluindo linfoma de Hodgkin e linfoma não Hodgkin, como linfoma não Hodgkin de grau baixo/folicular (NHL), linfoma celular (FCC), linfoma de células do manto (MCL), linfoma difuso de células grandes (DLCL), NHL linfocítico pequeno (SL), NHL de grau intermediário/folicular, NHL difuso de grau intermediário, NHL

imunoblástico de grau alto, NHL linfoblástico de grau alto, NHL de células pequenas não clivadas de alto grau, NHL de doença volumosa e macroglobulinemia de Waldenstrom; e em que o dito sarcoma é selecionado dentre o grupo que consiste em osteossarcoma, sarcoma de Ewing, leiomiossarcoma, sarcoma sinovial, sarcoma alveolar de partes moles, angiossarcoma, lipossarcoma, fibrossarcoma, rabdomiossarcoma e condrossarcoma.

[050] Em algumas modalidades, é revelado um método para o ensaio da expressão de SIRP α em células tumorais e/ou imunes com o uso de um anticorpo monoclonal anti-SIRP α ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que se liga especificamente a um epítopo na sequência de SEQ ID NO:121.

[051] Em algumas modalidades, o método compreende a obtenção de uma amostra do paciente, a colocação da amostra do paciente em contato com um anticorpo monoclonal anti-SIRP α ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que se liga especificamente a um epítopo na sequência de SEQ ID NO:121, e o ensaio para ligação do anticorpo à amostra do paciente, em que a ligação do anticorpo à amostra do paciente é diagnóstica da expressão de SIRP α em uma amostra do paciente.

[052] Em algumas modalidades, é revelado um método para o ensaio da expressão de SIRP γ em células tumorais e/ou imunes com o uso de um anticorpo monoclonal anti-SIRP α ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que se liga especificamente a um epítopo na sequência de SEQ ID NO:122.

[053] Em algumas modalidades, o método compreende a obtenção de uma amostra do paciente, a colocação da amostra do paciente em contato com um anticorpo monoclonal anti-SIRP γ ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que

se liga especificamente a um epítopo na sequência de SEQ ID NO:122, e o ensaio para ligação do anticorpo à amostra do paciente, em que a ligação do anticorpo à amostra do paciente é diagnóstica da expressão de SIRP γ em uma amostra do paciente.

[054] Em algumas modalidades, o tumor é um tumor cancerígeno primário ou um tumor cancerígeno metastático.

[055] Em algumas modalidades, o ensaio para ligação do anticorpo monoclonal anti-SIRP α ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo à amostra do paciente utiliza identificação imuno-histoquímica de uma amostra de tecido, ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) ou citometria de fluxo.

[056] Em algumas modalidades, o método compreende células tumorais, e o ensaio compreende o ensaio para a ligação do anticorpo monoclonal anti-SIRP α ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo a células tumorais na amostra do paciente.

[057] O escopo adicional da aplicabilidade da presente revelação se tornará evidente a partir da descrição detalhada fornecida abaixo. Entretanto, deve-se compreender que a descrição detalhada e os exemplos específicos, embora indiquem modalidades da revelação, são fornecidos apenas a título de ilustração, visto que várias mudanças e modificações no espírito e escopo da revelação se tornarão evidentes para aqueles versados na técnica a partir desta descrição detalhada.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

[058] O disposto acima e outros aspectos, recursos e vantagens da presente revelação serão mais bem compreendidos a partir das descrições detalhadas a seguir tomadas em conjunto com o desenho anexo (ou desenhos anexos),

todos os quais são fornecidos apenas a título de ilustração e não são limitados na presente revelação.

[059] **Figura 1A - Figura 1V.** Ligação de anticorpos anti-SIRP à SIRP α humana. A ligação de anticorpos anti-SIRP à SIRP α humana recombinante foi determinada por ELISA em fase sólida. Placas de ELISA de alta ligação foram revestidas com SIRP α humana recombinante, e concentrações crescentes de anticorpos anti-SIRP foram adicionadas por 1 hora. Os poços foram lavados e, então, incubados com anticorpo secundário identificado com HRP por 1 hora seguido pela adição de substrato de peroxidase, e a absorvância a 450 nm foi medida.

[060] **Figura 2.** Ligação de mAbs derivados de hibridoma (SIRP1, SIRP2 e SIRP3) à SIRP α que expressa células THP1. A ligação de SIRP1, SIRP2 e SIRP3 à linhagem de células monocíticas THP-1 foi determinada. As células foram incubadas com concentrações crescentes de anticorpo por 1 h. As células foram lavadas e, então, incubadas com anticorpo secundário identificado com Alexaflour 647 por 1 h. As células foram lavadas, e a ligação do anticorpo foi medida com o uso de citometria de fluxo.

[061] **Figura 3A - Figura 3V.** Ligação de anticorpos anti-SIRP à SIRP gama humana. A ligação de anticorpos anti-SIRP à SIRP gama humana recombinante (SIRP γ) foi determinada por ELISA em fase sólida. Placas de ELISA de alta ligação foram revestidas com SIRP gama humana recombinante, e concentrações crescentes de anticorpos anti-SIRP foram adicionadas por 1 hora. Os poços foram lavados e, então, incubados com anticorpo secundário identificado com HRP por 1 hora seguido pela adição de substrato de peroxidase, e

a absorvância a 450 nm foi medida.

[062] **Figura 4A - Figura 4B.** Ligação de mAbs SIRP à SIRP γ que expressa células T Jurkat. A ligação de SIRP1, SIRP2, SIRP3, SIRP4 e SIRP9 a células T Jurkat de ALL foi determinada. As células foram incubadas com concentrações crescentes de anticorpo **Figura 4A**; ou 10 $\mu\text{g/ml}$ dos anticorpos anti-SIRP por 1 h; **Figura 4B**. As células foram lavadas e, então, incubadas com anticorpo secundário identificado com Alexaflour 647 por 1 h. As células foram lavadas, e a ligação do anticorpo foi medida com o uso de citometria de fluxo.

[063] **Figura 5A - Figura 5G.** Bloqueio de ligação de CD47/SIRP α humano por anticorpos anti-SIRP. A capacidade de anticorpos anti-SIRP para bloquear a interação entre CD47 e SIR α humana recombinante foi determinada por ELISA em fase sólida. Placas de ELISA de alta ligação foram revestidas com SIRP α humana recombinante, e concentrações crescentes de anticorpos anti-SIRP foram adicionadas por 1 hora. Os poços foram lavados e, então, incubados com um CD47 humano etiquetado com Fc por 1 hora. Os poços foram lavados e, então, incubados com um anticorpo secundário identificado com HRP por 1 hora seguido pela adição de substrato de peroxidase, e a absorvância a 450 nm foi medida.

[064] **Figura 6A - Figura 6H.** Bloqueio de ligação de CD47/SIRP γ humano por anticorpos anti-SIRP. A capacidade de anticorpos anti-SIRP para bloquear a interação entre CD47 e SIRP γ humana recombinante foi determinada por ELISA em fase sólida. Placas de ELISA de alta ligação foram revestidas com SIRP γ humana recombinante, e concentrações crescentes de anticorpos anti-SIRP foram adicionadas por 1 hora. Os poços foram lavados e, então, incubados com um CD47 humano etiquetado

com Fc por 1 hora. Os poços foram lavados e, então, incubados com um anticorpo secundário identificado com HRP por 1 hora seguido pela adição de substrato de peroxidase, e a absorvância a 450 nm foi medida.

[065] **Figura 7A - Figura 7B.** Anticorpos anti-SIRP intensificam a fagocitose. Macrófagos humanos foram colocados em placas a uma concentração de 3×10^4 células por poço em uma placa de 96 poços, e permitiu-se a adesão por 24 horas. 8×10^4 células T Jurkat humanas identificadas com CFSE (1 μ M) e concentrações crescentes de anticorpos anti-SIRP, **Figura 7A**; ou 10 μ g/ml dos anticorpos anti-SIRP, **Figura 7B**, foram adicionados às culturas de macrófagos e incubados a 37 °C por 3 horas. Células Jurkat não fagocitadas foram removidas, e as culturas de macrófagos foram lavadas. Os macrófagos foram tripsinizados e manchados para CD14. Citometria de fluxo foi usada para determinar a porcentagem de células CD14⁺/CFSE⁺ na população de CD14⁺ total.

[066] **Figura 8A - Figura 8J.** Anticorpos anti-SIRP intensificam a fagocitose em combinação com anticorpos anti-CD47. Macrófagos humanos foram colocados em placas a uma concentração de 3×10^4 células por poço em uma placa de 96 poços, e permitiu-se a adesão por 24 horas. 8×10^4 células T Jurkat humanas identificadas com CFSE (1 μ M) e concentrações crescentes de anticorpos anti-SIRP isoladamente, anticorpo anti-CD47 isoladamente ou uma combinação de anticorpos anti-SIRP e anticorpo anti-CD47 foram adicionados às culturas de macrófagos e incubados a 37 °C por 3 horas. Células Jurkat não fagocitadas foram removidas, e as culturas de macrófagos foram lavadas. Os macrófagos foram tripsinizados e manchados para CD14. Citometria de fluxo foi usada para determinar a

porcentagem de células CD14⁺/CFSE⁺ na população de CD14⁺ total.

[067] **Figura 9A - Figura 9D.** Anticorpos anti-SIRP intensificam a fagocitose em combinação com anticorpos anti-CD20. Macrófagos humanos foram colocados em placas a uma concentração de 3x10⁴ células por poço em uma placa de 96 poços, e permitiu-se a adesão por 24 horas. 8x10⁴ células de linfoma RAJI humanas identificadas com CFSE (1 µM) e concentrações crescentes de anticorpos anti-SIRP isoladamente, o anticorpo anti-CD20 Rituxan isoladamente ou uma combinação de anticorpos anti-SIRP e Rituxan foram adicionados às culturas de macrófagos e incubados a 37 °C por 3 horas. Células RAJI não fagocitadas foram removidas, e as culturas de macrófagos foram lavadas. Os macrófagos foram tripsinizados e manchados para CD14. Citometria de fluxo foi usada para determinar a porcentagem de células CD14⁺/CFSE⁺ na população de CD14⁺ total.

[068] **Figura 10A - Figura 10B.** Anticorpos anti-SIRP intensificam a fagocitose em combinação com anticorpos anti-EGFR e anti-PD-L1. Macrófagos humanos foram colocados em placas a uma concentração de 3x10⁴ células por poço em uma placa de 96 poços, e permitiu-se a adesão por 24 horas. 8x10⁴ HNSCC FaDu humano identificado com CFSE (1 µM) e concentrações crescentes de anticorpos anti-SIRP isoladamente, o anticorpo anti-EGFR Erbitux isoladamente ou anticorpos anti-SIRP em combinação com Erbitux ou em combinação com Avelumabe foram adicionados às culturas de macrófagos e incubados a 37 °C por 3 horas. Células FaDu não fagocitadas foram removidas, e as culturas de macrófagos foram lavadas. Os macrófagos foram tripsinizados e manchados para CD14. Citometria de fluxo foi usada para determinar a porcentagem de células CD14⁺/CFSE⁺ na população de CD14⁺ total.

[069] **Figura 11.** Anticorpos anti-SIRP se ligam à SIRP α em macrófagos e células dendríticas. A ligação de anticorpos anti-SIRP a macrófagos ou células dendríticas humanas foi determinada. Macrófagos derivados de monócito humano foram incubados com concentrações crescentes de anticorpos anti-SIRP por 1 h. As células foram lavadas e, então, incubadas com anticorpo secundário identificado com AF647 por 45 min, lavadas, e a ligação do anticorpo foi medida com o uso de citometria de fluxo.

[070] **Figura 12A - Figura 12C.** Anticorpos anti-SIRP se ligam à SIRP γ em células T virgens e ativadas. A ligação de anticorpos anti-SIRP a células T virgens (**Figura 12A e Figura 12B**) ou a células T ativadas (**Figura 12C**) após ativação de 3 dias em placas revestidas com anti-CD3 foi determinada por citometria de fluxo. As células T foram incubadas com concentrações crescentes de anticorpos anti-SIRP por 1 h, as células foram lavadas, e anticorpo secundário anti-camundongo identificado com FITC foi adicionado por 1 h. As células foram lavadas, e a ligação do anticorpo foi medida com o uso de citometria de fluxo.

[071] **Figura 13.** Bloqueio de ligação de CD47/SIRP α humano por anticorpos anti-SIRP em macrófagos. A capacidade de anticorpos anti-SIRP para bloquear a interação entre CD47 humano recombinante e SIRP α expressa em macrófago foi determinada por citometria de fluxo. Os receptores Fc nos macrófagos foram bloqueados antes da incubação com 10 μ g/ml dos anticorpos anti-SIRP. A ligação de CD47 humano etiquetado com Fc solúvel (20 μ g/ml) foi medida com o uso de anticorpo secundário anti-humano etiquetado com AF647.

[072] **Figura 14A - Figura 14B.** Anticorpos anti-

SIRP não inibem a proliferação de células T mediante estímulo de células dendríticas alogênicas. O efeito de anticorpos anti-SIRP na proliferação de células T foi determinado ativando-se células T CD3 humanas identificadas com CellTrace Violet com células dendríticas derivadas de monócito humano alogênico em uma razão células T:DC de 1:5 na presença de 10 µg/ml de anticorpos anti-SIRP. Citometria de fluxo foi usada para determinar a porcentagem de células T CD3 proliferadas após cocultura de 6-7 dias. A linha pontilhada representa proliferação de controle de hIgG4P.

[073] **Figura 15.** Anticorpos anti-SIRP não inibem a resposta de memória do antígeno. O efeito de anticorpos anti-SIRP em respostas de memória do antígeno de células T foi avaliado com o uso de PBMC de doador soropositivo para citomegalovírus humano. PBMC identificado com corante CellTrace Violet foram incubadas com 10 µg/ml de anticorpos anti-SIRP na presença de concentrações crescentes de antígeno para CMV por 5 dias. A proliferação de células T foi determinada pela diluição do corante CellTrace Violet na população de células T CD4+ com o uso de citometria de fluxo.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA REVELAÇÃO

Definições

[074] A menos que definido de outro modo, os termos científicos e técnicos usados em conexão com a presente revelação devem ter os significados que são comumente compreendidos por aqueles de habilidade comum na técnica. Adicionalmente, a menos que exigido de outro modo pelo contexto, termos no singular devem incluir pluralidades e termos no plural devem incluir o singular. Em geral, as nomenclaturas utilizadas em conexão com cultura celular e

tecidual, biologia molecular e química e hibridização de proteínas e oligo ou polinucleotídeos, e as técnicas das mesmas, descritas no presente documento são aquelas bem conhecidas e comumente usadas na arte.

[075] Conforme usado no presente documento, os termos "SIRP α " e "substrato de proteína tirosina fosfatase contendo domínio de homologia Src 2 (SH2) 1 (SHPS-1)" são sinônimos e podem ser usados intercambiavelmente.

[076] O termo "anticorpo anti-SIRP α " se refere a um anticorpo da revelação que se destina ao uso como um agente terapêutico ou diagnóstico e se liga especificamente à SIRP α , em particular, a uma SIRP α humana.

[077] O termo "anti-SIRP" se refere a um anticorpo da revelação que se destina ao uso como um agente terapêutico ou diagnóstico e se liga especificamente à SIRP α , em particular, a uma SIRP α humana, a uma ou ambas dentre duas variantes comuns identificadas, SIRP α V1 e SIRP α V2, e/ou variantes de SIRP γ e anticorpo das mesmas.

[078] Conforme usado no presente documento, o termo "anticorpo" se refere a moléculas de imunoglobulina e a porções imunologicamente ativas de moléculas de imunoglobulina (Ig), isto é, moléculas que contêm um sítio de ligação ao antígeno que se liga especificamente a (imunorreage com) um antígeno. Por "se liga especificamente" ou "imunorreage com" ou "direcionado contra" entende-se que o anticorpo reage com um ou mais determinantes antigênicos do antígeno desejado e não reage com outros polipetídeos ou se liga a uma afinidade muito inferior ($K_d > 10^{-6}$ M). Anticorpos incluem, porém sem limitação, anticorpos policlonais, monoclonais, quiméricos, de fragmentos Fab, de fragmentos Fab', de fragmentos F(ab')₂, de

fragmentos Fv de cadeia única e de um braço.

[079] Conforme usado no presente documento, o termo "anticorpo monoclonal (mAb)", conforme aplicado aos presentes compostos de anti-SIRP α , se refere a um anticorpo que é derivado de uma única cópia ou clone, incluindo, por exemplo, qualquer clone eucariótico, procariótico ou de fago, e não do método pelo qual é produzido. Anticorpos monoclonais da presente revelação existem, de preferência, em uma população homogênea ou substancialmente homogênea. mAbs completos contêm 2 cadeias pesadas e 2 cadeias leves.

[080] Um "fragmento de anticorpo" se refere a uma molécula diferente de um anticorpo intacto que compreende uma porção de um anticorpo intacto que se liga ao antígeno ao qual o anticorpo intacto se liga. Exemplos de fragmentos de anticorpo incluem, porém sem limitação, Fv, Fab, Fab', Fab' - SH, F(ab')₂; diacorpos; anticorpos lineares; moléculas de anticorpo de cadeia única (por exemplo, scFv); e anticorpos multiespecíficos formados de partir de fragmentos de anticorpo.

[081] Conforme revelado no presente documento, "compostos de anticorpo" se referem a mAbs e fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos. Compostos de anticorpo adicionais que exibem propriedades funcionais similares de acordo com a presente revelação podem ser gerados por métodos convencionais. Por exemplo, camundongos podem ser imunizados com SIRP α humana ou fragmentos da mesma, os anticorpos resultantes podem ser recuperados e purificados e a determinação da possibilidade de os mesmos possuírem propriedades de ligação e funcionais similares ou iguais às dos compostos de anticorpo revelados no presente documento

pode ser avaliada pelos métodos revelados nos Exemplos. Fragmentos de ligação ao antígeno podem também ser preparados por métodos convencionais. Métodos para produzir e purificar anticorpos e fragmentos de ligação ao antígeno são bem conhecidos na técnica e podem ser encontrados, por exemplo, em Harlow e Lane (1988) *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, Nova York, capítulos 5-8 e 15.

[082] Conforme revelado no presente documento, "anticorpos multiespecíficos" são, por exemplo, anticorpos biespecíficos, triespecíficos ou tetraespecíficos. Em algumas modalidades, os anticorpos multiespecíficos têm como alvo SIRP α e/ou SIRP γ e pelo menos uma outra especificidade de ligação ao antígeno em uma molécula. Em algumas modalidades, os anticorpos multiespecíficos podem, simultaneamente, ter como alvo SIRP α e/ou SIRP γ e pelo menos um segundo antígeno (biespecífico), ou pelo menos um segundo e terceiro antígeno (triespecífico) ou pelo menos um segundo, terceiro e quarto antígeno (tetraespecífico), em que o segundo antígeno, terceiro antígeno e quarto antígeno está em uma célula tumoral, conforme revelado no presente documento.

[083] Anticorpos biespecíficos são anticorpos que têm duas especificidades de ligação ao antígeno diferentes em uma molécula. Consequentemente, anticorpos triespecíficos são anticorpos que têm três especificidades de ligação ao antígeno diferentes em uma molécula. Anticorpos tetraespecíficos são anticorpos que têm quatro especificidades de ligação ao antígeno diferentes em uma molécula. Em uma modalidade, os anticorpos anti-SIRP α , conforme revelado no presente documento, são anticorpos biespecíficos que têm como

alvo SIRP α e/ou SIRP γ e um segundo antígeno em uma célula tumoral, conforme revelado no presente documento.

[084] Os anticorpos monoclonais abrangem anticorpos nos quais uma porção da cadeia pesada e/ou leve é idêntica ou homóloga a sequências correspondentes em anticorpos murinos, em particular, as CDRs murinas, enquanto o restante da cadeia (ou cadeias) é idêntico ou homólogo a sequências correspondentes em anticorpos humanos. Outras modalidades da revelação incluem fragmentos de ligação ao antígeno desses anticorpos monoclonais que exibem propriedades de ligação e biológicas similares ou idênticas às dos anticorpos monoclonais. Os anticorpos da presente revelação podem compreender regiões constantes de cadeia leve capa ou lambda e regiões constantes de IgA, IgD, IgE, IgG ou IgM de cadeia pesada, incluindo aquelas de subclasses de IgG, IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4, e, em alguns casos, com várias mutações para alterar a função do receptor Fc.

[085] Os anticorpos monoclonais que contêm as CDRs murinas presentemente reveladas podem ser preparados por qualquer um dos vários métodos conhecidos por aqueles versados na técnica, incluindo métodos de DNA recombinante.

[086] Resumos de métodos atuais para modificação e melhoramento genético de anticorpos podem ser encontrados, por exemplo, em P. Chames, edição, (2012) *Antibody Engineering: Methods and Protocols, Second Edition (Methods in Molecular Biology, Livro 907)*, Humana Press, ISBN-10: 1617799734; C. R. Wood, edição, (2011) *Antibody Drug Discovery (Molecular Medicine and Medicinal Chemistry, Livro 4)*, Imperial College Press; R. Kontermann e S. Dubel, edições, (2010) *Antibody Engineering, Volumes 1 e 2* (Protocolos de Springer), segunda

edição; e W. Strohl e L. Strohl (2012) *Therapeutic antibody engineering: Current and future advances driving the strongest growth area in the pharmaceutical industry*, publicação de Woodhead.

[087] Métodos para produzir e purificar anticorpos e fragmentos de ligação ao antígeno são bem conhecidos na técnica e podem ser encontrados, por exemplo, em Harlow e Lane (1988) *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, Nova York, capítulos 5-8 e 15.

[088] Um anticorpo de comprimento total, conforme existe naturalmente, é uma molécula de imunoglobulina em formato de "Y" que compreende quatro cadeias polipeptídicas: duas cadeias pesadas (H) idênticas e duas cadeias leves (L) idênticas, interconectadas por ligações dissulfeto. A porção terminal amino de cada cadeia, denominada região de ligação ao antígeno do fragmento (FAB), inclui uma região variável de cerca de 100-110 ou mais aminoácidos, principalmente responsável pelo reconhecimento de antígeno por meio das regiões determinantes de complementaridade (CDRs) contidas na mesma. A porção terminal carbóxi de cada cadeia define uma região constante (a região "Fc"), principalmente responsável pela função efetora.

[089] As CDRs são intercaladas com regiões que são mais conservadas, denominadas frameworks ("FRs"). Sequências de aminoácidos de muitos FRs são bem conhecidas na técnica. Cada região variável de cadeia leve (LCVR) e cada região variável de cadeia pesada (HCVR) são compostas por 3 CDRs e 4 FRs, dispostos a partir da terminação amino até a terminação carbóxi na seguinte ordem: FR1, CDR1, FR2, CDR2,

FR3, CDR3, FR4. As 3 CDRs da cadeia leve são denominadas "LCDR1, LCDR2 e LCDR3" e as 3 CDRs da cadeia pesada são denominadas "HCDR1, HCDR2 e HCDR3". As CDRs contêm a maior parte dos resíduos que formam interações específicas com o antígeno. A numeração e o posicionamento de resíduos de aminoácidos de CDR nas regiões LCVR e HCVR estão em conformidade com a convenção bem conhecida da numeração de Kabat, Kabat *et al.* (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5ª edição. Publicação NIH nº 91-3242.

[090] Conforme descrito no presente documento, o "sítio de ligação ao antígeno" pode também ser definido como as "regiões hipervariáveis", "HVRs" ou "HVs", e se refere às regiões estruturalmente hipervariáveis de domínios variáveis de anticorpo conforme definido por Chothia e Lesk (Chothia e Lesk, *Mol. Biol.* 196:901-917, 1987). Há seis HVRs, três em VH (H1, H2, H3) e três em VL (L1, L2, L3). As CDRs, conforme definido por Kabat, foram usadas no presente documento, exceto em H-CDR1, que é estendida de modo a incluir H1.

[091] Há cinco tipos de cadeias pesadas de imunoglobulina (Ig) de mamíferos, denotados pelas letras gregas α (alfa), δ (delta), ϵ (épsilon), γ (gama) e μ (mi), que definem a classe ou o isotipo de um anticorpo como IgA, IgD, IgE, IgG ou IgM, respectivamente. Anticorpos IgG podem, ainda, ser divididos em subclasses, por exemplo, IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4.

[092] Cada tipo de cadeia pesada é caracterizado por uma região constante específica com uma sequência bem conhecida na técnica. A região constante é idêntica em todos os anticorpos do mesmo isotipo, mas difere em anticorpos de isotipos diferentes. Cadeias pesadas γ , α e δ têm uma região

constante composta por três domínios de imunoglobulina (Ig) em tandem e uma região de dobradiça para adição de flexibilidade. Cadeias pesadas μ e ϵ têm uma região constante composta por quatro domínios de Ig.

[093] A região de dobradiça é um trecho de aminoácido flexível que liga as porções Fc e Fab de um anticorpo. Essa região contém resíduos de cisteína que podem formar ligações dissulfeto que unem duas cadeias pesadas.

[094] A região variável da cadeia pesada é diferente em anticorpos produzidos por células B diferentes, mas é a mesma para todos os anticorpos produzidos por uma única célula B ou clone de células B. A região variável de cada cadeia pesada tem aproximadamente 110 aminoácidos de comprimento e é composta por um único domínio de Ig.

[095] Em mamíferos, as cadeias leves são classificadas como kappa (κ) ou lambda (λ) e são caracterizadas por uma região constante específica conforme conhecido na técnica. Uma cadeia leve tem dois domínios sucessivos: um domínio variável na extremidade terminal amino e um domínio constante na extremidade terminal carbóxi. Cada anticorpo contém duas cadeias leves que são sempre idênticas; apenas um tipo de cadeia leve, κ ou λ , está presente por anticorpo em mamíferos.

[096] A região Fc, composta por duas cadeias pesadas que contribuem com três ou quatro domínios constantes, dependendo da classe do anticorpo, desempenha um papel na modulação da atividade de células imunes. Ligando-se às proteínas específicas, a região Fc assegura que cada anticorpo gere uma resposta imune adequada para um determinado antígeno. A região Fc também se liga a vários receptores celulares, como

receptores Fc, e a outras moléculas imunes, como proteínas complementares. Ao fazer isso, a mesma medeia diferentes efeitos fisiológicos, incluindo opsonização, lise celular e degranulação de mastócitos, basófilos e eosinófilos.

[097] Conforme usado no presente documento, o termo "epítopo" se refere a uma disposição específica de aminoácidos localizados em um peptídeo ou uma proteína à qual um anticorpo ou fragmento de anticorpo se liga. Epítopos frequentemente consistem em um grupamento de moléculas de superfície quimicamente ativa, como aminoácidos ou cadeias laterais de açúcar, e têm características estruturais tridimensionais específicas, bem como características de carga específicas. Epítopos podem ser lineares, isto é, envolver a ligação a uma única sequência de aminoácidos, ou conformacionais, isto é, envolver a ligação a duas ou mais sequências de aminoácidos em várias regiões do antígeno que podem não ser necessariamente contíguas à sequência linear.

[098] Conforme usado no presente documento, os termos "se liga especificamente", "ligar especificamente", "ligação específica" e semelhantes, conforme aplicado aos presentes compostos de anticorpo, se referem à capacidade de um agente de ligação específico (como um anticorpo) para se ligar a uma espécie molecular alvo em vez de se ligar a outra espécie molecular com a qual o agente de ligação específico e a espécie molecular alvo são misturados por adição. Diz-se que um agente de ligação específico reconhece especificamente uma espécie molecular alvo quando o mesmo pode se ligar especificamente a esse alvo.

[099] Conforme usado no presente documento, o termo "afinidade de ligação" se refere à força de ligação de

uma molécula a uma outra molécula em um sítio na molécula. Se uma molécula específica se ligará ou especificamente se associará a uma outra molécula específica, diz-se que essas duas moléculas exibem afinidade de ligação entre si. A afinidade de ligação está relacionada com a constante de associação e a constante de dissociação para um par de moléculas, mas não é fundamental para os métodos no presente documento que essas constantes sejam medidas ou determinadas. Em vez disso, as afinidades, conforme usado no presente documento para descrever interações entre moléculas dos métodos descritos, são geralmente afinidades aparentes (a menos que especificado de outro modo) observadas em estudos empíricos, que podem ser usados para comparar a força relativa com a qual uma molécula (por exemplo, um anticorpo ou outro parceiro de ligação específico) ligará duas outras moléculas (por exemplo, duas versões ou variantes de um peptídeo). Os conceitos de afinidade de ligação, constante de associação e constante de dissociação são bem conhecidos.

[100] Conforme usado no presente documento, o termo "identidade de sequência" significa a porcentagem de resíduos idênticos de nucleotídeos ou aminoácidos em posições correspondentes em duas ou mais sequências, quando as sequências estão alinhadas para maximizar a compatibilidade de sequência, isto é, considerando lacunas e inserções. A identidade pode ser prontamente calculada por métodos conhecidos, incluindo, porém sem limitação, aqueles descritos em: *Computational Molecular Biology*, Lesk, A. M., edição, Oxford University Press, Nova York, 1988; *Biocomputing: Informatics and Genome Projects*, Smith, D. W., edição, Academic Press, Nova York, 1993; *Computer Analysis of Sequence Data*,

Parte I, Griffin, A. M. e Griffin, H. G., edições, Human Press, Nova Jersey, 1994; *Sequence Analysis in Molecular Biology*, von Heinje, G., Academic Press, 1987; e *Sequence Analysis Primer*, Gribskov, M. e Devereux, J., edições, M Stockton Press, Nova York, 1991; e Carillo, H. e Lipman, D., *SIAM J. Applied Math.*, 48: 1073 (1988). Métodos para determinar a identidade são projetados para fornecer a maior compatibilidade entre as sequências testadas. Ademais, métodos para determinar a identidade são codificados em programas de computador publicamente disponíveis.

[101] Alinhamento ideal de sequências para comparação pode ser conduzido, por exemplo, pelo algoritmo de homologia local de Smith e Waterman, pelos algoritmos de alinhamento de homologia, pelo método de busca por similaridade ou por implementações computadorizadas desses algoritmos (GAP, BESTFIT, PASTA e TFASTA no pacote GCG Wisconsin, disponível junto à Accelrys, Inc., São Diego, Califórnia, Estados Unidos da América), ou por inspeção visual. Consultar, de modo geral, Altschul, S. F. *et al.*, *J. Mol. Biol.* 215: 403-410 (1990) e Altschul *et al.* *Nucl. Acids Res.* 25: 3389-3402 (1997).

[102] Um exemplo de um algoritmo que é adequado para determinar o percentual de identidade de sequência e a similaridade de sequências é o algoritmo BLAST, que é descrito em (Altschul, S., *et al.*, NCBI NLM NIH Bethesda, Md. 20894; e Altschul, S., *et al.*, *J. Mol. Biol.* 215: 403-410 (1990)). O software para realizar análises BLAST está publicamente disponível através do National Center for Biotechnology Information. Esse algoritmo envolve primeiro identificar pares de sequência de alta pontuação (HSPs) identificando-se palavras curtas de comprimento W na sequência de consulta, que

são compatíveis ou satisfazem alguma pontuação limítrofe de valor positivo T, quando alinhadas com uma palavra do mesmo comprimento em uma sequência do banco de dados. T é denominado o limiar de pontuação da palavra nas proximidades.

[103] Essas compatibilidades de palavras nas proximidades iniciais atuam como sementes para a iniciação de pesquisas para encontrar HSPs mais longos contendo as mesmas. As compatibilidades de palavras são, então, estendidas em ambas as direções ao longo de cada sequência na medida em que a pontuação de alinhamento cumulativa possa ser aumentada. As pontuações cumulativas são calculadas com o uso, para sequências de nucleotídeos, dos parâmetros M (pontuação de compensação para um par de resíduos compatíveis; sempre; 0) e N (pontuação de penalidade para resíduos incompatíveis; sempre; 0). Para sequências de aminoácidos, uma matriz de pontuação é usada para calcular a pontuação cumulativa. A extensão das compatibilidades de palavras em cada direção é interrompida quando: a pontuação de alinhamento cumulativa cai uma quantidade X de seu valor máximo alcançado, a pontuação cumulativa tende a zero ou abaixo de zero devido ao acúmulo de um ou mais alinhamentos de resíduos de pontuação negativa ou a extremidade de qualquer uma das sequências é alcançada. Os parâmetros do algoritmo BLAST W, T e X determinam a sensibilidade e a velocidade do alinhamento. O programa BLASTN (para sequências de nucleotídeos) usa, como padrão, um comprimento de palavra (W) de 11, uma expectativa (E) de 10, um recorte de 100, $M = 5$, $N = -4$, e uma comparação de ambas as fitas. Para sequências de aminoácidos, o programa BLASTP usa, como padrão, um comprimento de palavra (W) de 3, uma expectativa (E) de 10 e a matriz de pontuação BLOSUM62.

[104] Além de calcular o percentual de identidade de sequência, o algoritmo BLAST também realiza uma análise estatística da similaridade entre duas sequências. Uma medida de similaridade fornecida pelo algoritmo BLAST é a menor probabilidade de soma ($P(N)$), que fornece uma indicação da probabilidade na qual uma compatibilidade entre duas sequências de nucleotídeos ou aminoácidos poderia ocorrer por acaso. Por exemplo, uma sequência de ácidos nucleicos de teste é considerada similar a uma sequência de referência se a menor probabilidade de soma em uma comparação da sequência de ácidos nucleicos de teste com a sequência de ácidos nucleicos de referência for, em uma modalidade, inferior a cerca de 0,1, em uma outra modalidade, inferior a cerca de 0,01 e, em ainda uma outra modalidade, inferior a cerca de 0,001.

[105] Conforme usado no presente documento, os termos "humanizado", "humanização" e semelhantes se referem ao enxerto das CDRs de anticorpo monoclonal murino reveladas no presente documento em regiões de FRs e constantes humanas. Também são abrangidas por esses termos possíveis modificações adicionais nas CDRs murinas, e FRs humanos, pelos métodos revelados, por exemplo, em Kashmiri *et al.* (2005) *Methods* 36(1):25-34 e Hou *et al.* (2008) *J. Biochem.* 144(1):115-120, respectivamente, para melhorar várias propriedades de anticorpo, conforme discutido abaixo.

[106] Conforme usado no presente documento, o termo "anticorpos humanizados" se refere a mAbs e fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos, incluindo os compostos de anticorpo revelados no presente documento, que têm propriedades de ligação e funcionais de acordo com a revelação similares àquelas reveladas no presente documento e que têm

regiões de FRs e constantes, que são substancialmente humanas ou completamente humanas, circundando as CDRs derivadas de um anticorpo não humano.

[107] Conforme usado no presente documento, o termo "FR" ou "sequência framework" se refere a qualquer um dos FRs 1 a 4. Anticorpos humanizados e fragmentos de ligação ao antígeno abrangidos pela presente revelação incluem moléculas em que qualquer um ou mais dos FRs 1 a 4 são substancial ou completamente humanos, isto é, em que qualquer uma das possíveis combinações de FRs individuais substancial ou completamente humanos 1 a 4 está presente. Por exemplo, isso incluir moléculas nas quais FR1 e FR2, FR1 e FR3, FR1, FR2 e FR3, etc., são substancial ou completamente humanos. Frameworks substancialmente humanos são aqueles que têm pelo menos 80% de identidade de sequência com uma sequência framework de linhagem germinativa humana conhecida. De preferência, os frameworks substancialmente humanos têm pelo menos 85%, pelo menos 86%, pelo menos 87%, pelo menos 88%, pelo menos 89%, pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98% ou pelo menos 99% de identidade de sequência com uma sequência framework revelada no presente documento ou com uma sequência framework de linhagem germinativa humana conhecida.

[108] Frameworks completamente humanos são aqueles que são idênticos a uma sequência framework de linhagem germinativa humana conhecida. Sequências FR de linhagem germinativa humana podem ser obtidas a partir do banco de dados internacional ImMunoGeneTics (IMGT) e a partir de *The Immunoglobulin FactsBook* de Marie-Paule Lefranc e Gerard

Lefranc, Academic Press, 2001, cujo conteúdo está incorporado ao presente documento a título de referência em sua totalidade.

[109] *The Immunoglobulin Facts Book* é um compêndio dos genes da imunoglobulina de linhagem germinativa humana que são usados para criar o repertório de anticorpos humanos e inclui registros para 203 genes e 459 alelos, com um total de 837 sequências exibidas. Os registros individuais compreendem todos os genes constantes da imunoglobulina humana e genes de variável de linhagem germinativa, diversidade e união que têm pelo menos um alelo funcional ou de quadro de leitura aberto e que estão localizados nos três loci principais. Por exemplo, FRs de cadeia leve de linhagem germinativa podem ser selecionados dentre o grupo que consiste em: IGKV3D-20, IGKV2-30, IGKV2-29, IGKV2-28, IGKV1-27, IGKV3-20, IGKV1-17, IGKV1-16, 1-6, IGKV1-5, IGKV1-12, IGKV1D-16, IGKV2D-28, IGKV2D-29, IGKV3-11, IGKV1-9, IGKV1-39, IGKV1D-39 e IGKV1D-33 e IGKJ1-5 e FRs de cadeia pesada de linhagem germinativa podem ser selecionados dentre o grupo que consiste em: IGHV1-2, IGHV1-18, IGHV1-46, IGHV1-69, IGHV2-5, IGHV2-26, IGHV2-70, IGHV1-3, IGHV1-8, IGHV3-9, IGHV3-11, IGHV3-15, IGHV3-20, IGHV3-66, IGHV3-72, IGHV3-74, IGHV4-31, IGHV3-21, IGHV3-23, IGHV3-30, IGHV3-48, IGHV4-39, IGHV4-59 e IGHV5-51 e IGHJ1-6.

[110] FRs substancialmente humanos são aqueles que têm pelo menos 80% de identidade de sequência com uma sequência FR de linhagem germinativa humana conhecida. De preferência, os frameworks substancialmente humanos têm pelo menos 85%, pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98% ou pelo menos 99% de identidade de sequência com sequências framework reveladas no presente

documento ou com uma sequência framework de linhagem germinativa humana conhecida.

[111] CDRs abrangidas pela presente revelação incluem não só aquelas especificamente reveladas no presente documento, mas também sequências de CDR que têm identidades de sequência de pelo menos 80%, pelo menos 85%, pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98% ou pelo menos 99% de identidade de sequência com uma sequência de CDR revelada no presente documento. Alternativamente, CDRs abrangidas pela presente revelação incluem não só aquelas especificamente reveladas no presente documento, mas também sequências de CDR que têm 1, 2, 3, 4 ou 5 mudanças de aminoácidos nas posições correspondentes em comparação com as sequências de CDR reveladas no presente documento. Tais CDRs de sequência idêntica ou de aminoácidos modificados se ligam, de preferência, ao antígeno reconhecido pelo anticorpo intacto.

[112] Anticorpos humanizados, além daqueles revelados no presente documento, que exibem propriedades funcionais similares de acordo com a presente revelação podem ser gerados com o uso de diversos métodos diferentes, Almagro *et al. Frontiers in Biosciences*. Humanization of antibodies. (2008) janeiro 1; 13:1619-33. Em uma abordagem, as CDRs de composto de anticorpo parental são enxertadas em um framework humano que tem alta identidade de sequência com o framework de composto de anticorpo parental. A identidade de sequência do novo framework terá geralmente pelo menos 80%, pelo menos 85%, pelo menos 86%, pelo menos 87%, pelo menos 88%, pelo menos 89%, pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos

97%, pelo menos 98% ou pelo menos 99% de identidade de sequência com a sequência do framework correspondente no composto de anticorpo parental. No caso de frameworks que têm menos de 100 resíduos de aminoácidos, um, dois, três, quatro, cinco, seis, sete, oito, nove ou dez resíduos de aminoácidos podem ser mudados. Esse enxerto pode resultar em uma redução na afinidade de ligação em comparação com aquela do anticorpo parental. Se esse for o caso, o framework pode ser retromutado para o framework parental em certas posições com base em critérios específicos revelados por Queen *et al.* (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. EUA* 88:2869. Referências adicionais que descrevem métodos úteis para gerar variantes humanizadas com base na homologia e em retromutações incluem aquelas descritas em Olimpieri *et al.* *Bioinformatics*. Fevereiro de 2015 1;31(3):434-435 e nas patentes U.S. nºs 4.816.397, 5.225.539 e 5.693,761; e o método de Winter e colaboradores (Jones *et al.* (1986) *Nature* 321:522-525; Riechmann *et al.* (1988) *Nature* 332:323-327; e Verhoeyen *et al.* (1988) *Science* 239:1534-1536.

[113] A humanização começou com a quimerização, um método desenvolvido durante a primeira metade da década de 80 (Morrison, S. L., M. J. Johnson, L. A. Herzenberg & V. T. Oi: Chimeric human antibodies molecules: mouse antigen-binding domains with human constant region domains. *Proc. Natl. Acad. Sci. EUA*, 81, 6851-5 (1984)), que consiste em combinar os domínios variáveis (V) de anticorpos murinos com domínios constantes (C) humanos para gerar moléculas com ~70% de conteúdo humano.

[114] Diversos métodos diferentes podem ser usados para gerar os anticorpos humanizados que são descritos no presente documento. Em uma abordagem, as CDRs de composto

de anticorpo parental são enxertadas em um FR humano que tem alta identidade de sequência com o framework de composto de anticorpo parental. A identidade de sequência do novo FR será geralmente pelo menos 80%, pelo menos 85%, pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98% ou pelo menos 99% idêntica à sequência do FR correspondente no composto de anticorpo parental. No caso de FRs que têm menos de 100 resíduos de aminoácidos, um, dois, três, quatro, cinco ou mais resíduos de aminoácidos podem ser mudados. Esse enxerto pode resultar em uma redução na afinidade de ligação em comparação com aquela do anticorpo parental. Se esse for o caso, o FR pode ser retromutado para o framework parental em certas posições com base em critérios específicos revelados por Queen *et al.* (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. EUA* 88:2869. Referências adicionais que descrevem métodos úteis para gerar variantes humanizadas com base na homologia e em retromutações incluem aquelas descritas em Olimpieri *et al.* *Bioinformatics*. Fevereiro de 2015 1;31(3):434-435 e nas patentes U.S. nºs 4.816.397, 5.225.539 e 5.693,761; e o método de Winter e colaboradores (Jones *et al.* (1986) *Nature* 321:522-525; Riechmann *et al.* (1988) *Nature* 332:323-327; e Verhoeyen *et al.* (1988) *Science* 239:1534-1536.

[115] A identificação de resíduos a considerar para retromutação pode ser realizada conforme descrito abaixo. Quando um aminoácido se enquadra na seguinte categoria, o aminoácido do framework da sequência de linhagem germinativa humana que é usada (o "FR aceitante") é substituído por um aminoácido do framework de um framework do composto de anticorpo parental (o "FR doador"):

(a) o aminoácido no FR humano do framework aceitante é atípico para frameworks humanos nessa posição, enquanto o aminoácido correspondente na imunoglobulina doadora é típico para frameworks humanos nessa posição;

(b) a posição do aminoácido é imediatamente adjacente àquele das CDRs; ou

(c) qualquer átomo de cadeia lateral de um aminoácido do framework está dentro de cerca de 5-6 angstroms (centro a centro) de qualquer átomo de um aminoácido de CDR em um modelo de imunoglobulina tridimensional.

[116] Quando cada um dos aminoácidos no FR humano do framework aceitante e um aminoácido correspondente no framework doador for geralmente atípico para frameworks humanos nessa posição, tal aminoácido pode ser substituído por um aminoácido típico para frameworks humanos nessa posição. Esse critério de retromutação possibilita a recuperação da atividade do composto de anticorpo parental.

[117] Uma outra abordagem para gerar anticorpos humanizados que exibem propriedades funcionais similares às dos compostos de anticorpo revelados no presente documento envolve a mutação aleatória de aminoácidos nas CDRs enxertadas sem mudar o framework e a triagem das moléculas resultantes quanto à afinidade de ligação e outras propriedades funcionais que são tão boas quanto aquelas dos compostos de anticorpo parentais ou melhores que as mesmas. Mutações únicas também podem ser introduzidas em cada posição de aminoácido em cada CDR, seguido pela avaliação dos efeitos de tais mutações na afinidade de ligação e em outras propriedades funcionais. Mutações únicas que produzem propriedades melhoradas podem ser combinadas para avaliar seus efeitos em combinação entre si.

[118] Adicionalmente, uma combinação de ambas as abordagens supracitadas é possível. Após o enxerto de CDR, pode-se retromutar FRs específicos além de introduzir mudanças de aminoácidos nas CDRs. Essa metodologia é descrita em Wu *et al.* (1999) *J. Mol. Biol.* 294: 151-162.

[119] Ao aplicar os ensinamentos da presente revelação, uma pessoa versada na arte pode usar técnicas comuns, por exemplo, mutagênese sítio-dirigida, para substituir aminoácidos nas sequências de CDR e RF presentemente reveladas e, assim, gerar outras sequências de aminoácidos de região variável derivadas das presentes sequências. Até todos os aminoácidos de ocorrência natural podem ser introduzidos em um sítio de substituição específico. Os métodos revelados no presente documento podem, então, ser usados para triar essas sequências de aminoácidos de região variável adicionais para identificar sequências que têm as funções *in vivo* indicadas. Dessa forma, outras sequências adequadas para preparar anticorpos humanizados e porções de ligação ao antígeno dos mesmos de acordo com a presente revelação podem ser identificadas. De preferência, a substituição de aminoácidos nos frameworks é restrita a uma, duas, três, quatro ou cinco posições em qualquer um ou mais dos quatro FRs de cadeia leve e/ou cadeia pesada revelados no presente documento. De preferência, a substituição de aminoácidos nas CDRs é restrita a uma, duas, três, quatro ou cinco posições em qualquer uma ou mais das três CDRs de cadeia leve e/ou cadeia pesada. Combinações das várias mudanças nesses FRs e nessas CDRs descritas acima também são possíveis.

[120] Pode-se confirmar que as propriedades funcionais dos compostos de anticorpo gerados se introduzindo

as modificações de aminoácidos discutidas acima estão em conformidade com aquelas exibidas pelas moléculas específicas reveladas no presente documento pelos métodos nos exemplos revelados no presente documento.

[121] Conforme descrito acima, para contornar o problema de estimular resposta de anticorpo anti-murino humano (HAMA) em pacientes, anticorpos murinos foram geneticamente manipulados para substituir progressivamente seu conteúdo murino pelos resíduos de aminoácidos presentes em suas contrapartes humanas enxertando-se suas regiões determinantes de complementaridade (CDRs) nos frameworks leves variáveis (V_L) e pesados variáveis (V_H) de moléculas de imunoglobulina humanas, enquanto retém aqueles resíduos de framework murino considerados essenciais para a integridade do sítio de combinação com antígeno. Entretanto, as CDRs xenogênicas dos anticorpos humanizados podem evocar resposta anti-idiotípica (anti-Id) nos pacientes.

[122] Para minimizar a resposta anti-Id, foi desenvolvido um procedimento para humanizar anticorpos xenogênicos enxertando-se, nos frameworks humanos, apenas os resíduos de CDR mais indispensáveis na interação anticorpo-ligante, chamado "enxerto de SDR", em que apenas os resíduos determinantes de especificidade (SDRs) indispensáveis de CDRs são enxertados nos frameworks humanos. Esse procedimento, descrito em Kashmiri *et al.* (2005) *Methods* 36(1):25-34, envolve a identificação de SDRs com o auxílio de um banco de dados das estruturas tridimensionais dos complexos de antígeno-anticorpo de estruturas conhecidas ou a análise mutacionais do sítio de combinação com o anticorpo. Uma abordagem alternativa para humanização que envolve a retenção de mais resíduos de CDR se

baseia no enxerto das CDRs "abreviadas" com os trechos de resíduos de CDR que incluem todos os SDRs. Kashmiri *et al.* também revelam um procedimento para avaliar a reatividade de anticorpos humanizados a soros de pacientes que foram administrados com o anticorpo murino.

[123] Uma outra estratégia para construir variantes de anticorpo humano com propriedades imunogênicas melhoradas é revelada em Hou *et al.* (2008) *J. Biochem.* 144(1):115-120. Esses autores desenvolveram um anticorpo humanizado a partir de 4C8, um anticorpo monoclonal CD34 anti-humano murino, por enxerto de CDR com o uso de um modelo molecular de 4C8 construído por modelagem de homologia auxiliada por computador. Com o uso desse modelo molecular, os autores identificaram resíduos de FR de potencial importância na ligação ao antígeno. Uma versão humanizada de 4C8 foi gerada transferindo-se esses resíduos-chave de FR murino para um framework de anticorpo humano que foi selecionado com base na homologia com o FR de anticorpo murino, juntamente com resíduos de CDR murina. Mostrou-se que o anticorpo humanizado resultante possui afinidade de ligação ao antígeno e especificidade similares às daquelas do anticorpo murino original, sugerindo que o mesmo pode ser uma alternativa para os anticorpos anti-CD34 murinos utilizados clinicamente de forma rotineira.

[124] As modalidades da presente revelação abrangem anticorpos criados para evitar o reconhecimento pelo sistema imune humano que contém as CDRs reveladas no presente documento em qualquer forma combinatória, de modo que os mAbs contemplados possam conter o conjunto de CDRs de um único mAb murino revelado no presente documento, ou cadeias leves e pesadas que contêm conjuntos de CDRs que compreendem CDRs

individuais derivadas de dois ou três dos mAbs murinos revelados. Tais mAbs podem ser criados por técnicas padrão de biologia molecular e triados quanto a atividades desejadas com o uso dos ensaios descritos no presente documento. Dessa forma, a revelação fornece uma abordagem de "mistura e compatibilidade" para criar mAbs inovadores que compreendem uma mistura de CDRs dos mAbs murinos revelados para alcançar novas ou melhores atividades terapêuticas.

[125] Anticorpos monoclonais ou fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos abrangidos pela presente revelação que "competem" com as moléculas reveladas no presente documento são aqueles que se ligam à SIRP α humana no sítio (ou sítios) que é idêntico ou se sobrepõe ao sítio (ou sítios) no qual as presentes moléculas se ligam. Anticorpos monoclonais competidores ou fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos podem ser identificados, por exemplo, por meio de um ensaio de competição de anticorpos. Por exemplo, uma amostra de domínio extracelular de SIRP α humana purificada ou parcialmente purificada pode ser ligada a um suporte sólido. Então, um composto de anticorpo, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, da presente revelação e um anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, suspeito de ter capacidade para competir com tal composto de anticorpo da revelação são adicionados. Uma das duas moléculas é identificada. Se o composto identificado e o composto não identificado se ligam a sítios separados e distintos em SIRP α , o composto identificado se ligará no mesmo nível se o composto competidor suspeito estiver ou não presente. Entretanto, se os sítios de interação forem idênticos ou sobrepostos, o composto não identificado competirá, e a quantidade de composto

identificado ligado ao antígeno será reduzida. Se o composto não identificado estiver presente em excesso, muito pouco, se houver, composto identificado se ligará. Para os propósitos da presente revelação, anticorpos monoclonais competidores ou fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos são aqueles que diminuem a ligação dos presentes compostos de anticorpo à SIRP α em cerca de 50%, cerca de 60%, cerca de 70%, cerca de 80%, cerca de 85%, cerca de 86%, cerca de 87%, cerca de 88%, cerca de 89%, cerca de 90%, cerca de 91%, cerca de 92%, cerca de 93%, cerca de 94%, cerca de 95%, cerca de 96%, cerca de 97%, cerca de 98% ou cerca de 99%. Detalhes dos procedimentos para realizar tais ensaios de competição são bem conhecidos na técnica e podem ser encontrados, por exemplo, em Harlow e Lane (1988) *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. Tais ensaios podem se tornar quantitativos com o uso de anticorpos purificados. Uma curva padrão é estabelecida titulando-se um anticorpo contra si mesmo, isto é, o mesmo anticorpo é usado tanto para o identificador como para o competidor. A capacidade de um anticorpo monoclonal competidor não identificado ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo para inibir a ligação da molécula identificada à placa é titulada. Os resultados são plotados, e as concentrações necessárias para alcançar o grau desejado de inibição de ligação são comparadas.

[126] A possibilidade de os mAbs ou fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos que competem com os compostos de anticorpo da presente revelação em tais ensaios de competição possuírem propriedades funcionais iguais ou similares às dos presentes compostos de anticorpo pode ser determinada por meio desses métodos em conjunto com os métodos

descritos nos Exemplos 2-7, abaixo. Em várias modalidades, anticorpos competidores para uso nos métodos terapêuticos abrangidos no presente documento possuem atividades biológicas conforme descrito no presente documento na faixa de cerca de 50% a cerca de 100% ou cerca de 125% ou mais, em comparação com aquelas dos compostos de anticorpo revelados no presente documento. Em algumas modalidades, os anticorpos competidores possuem cerca de 50%, cerca de 60%, cerca de 70%, cerca de 80%, cerca de 85%, cerca de 90%, cerca de 91%, cerca de 92%, cerca de 93%, cerca de 94%, cerca de 95%, cerca de 96%, cerca de 97%, cerca de 98%, cerca de 99% ou atividade biológica idêntica em comparação com aquela dos compostos de anticorpo revelados no presente documento, conforme determinado pelos métodos revelados nos Exemplos apresentados abaixo.

[127] Os mAbs, ou fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos, ou anticorpos competidores úteis nas composições e métodos podem ser qualquer um dos isotipos descritos no presente documento. Além disso, qualquer um desses isotipos pode compreender modificações de aminoácidos adicionais conforme a seguir.

[128] O anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou o anticorpo competidor descrito no presente documento pode ser do isotipo IgG1 humana.

[129] A região constante de IgG1 humana do anticorpo monoclonal, fragmento de ligação ao antígeno do mesmo ou anticorpo competidor descrito no presente documento pode ser modificada para alterar a meia vida do anticorpo. A meia vida do anticorpo é regulada, em grande parte, por interações dependentes de Fc com o receptor Fc neonatal (Roopenian e Alikesh, 2007). A região constante de IgG1 humana do anticorpo

monoclonal, fragmento de ligação ao antígeno do mesmo ou anticorpo competidor pode ser modificada para aumentar a meia vida, incluindo, porém sem limitação, modificações de aminoácidos N434A, T307A/E380A/N434A (Petkova *et al.*, 2006, Yeung *et al.*, 2009); M252Y/S254T/T256E (Dall'Acqua *et al.*, 2006); T250Q/M428L (Hinton *et al.*, 2006); e M428L/N434S (Zalevsky *et al.*, 2010).

[130] Em oposição ao aumento da meia vida, há mais circunstâncias em que uma diminuição da meia vida seria desejada, como para reduzir a possibilidade de eventos adversos associados a anticorpos de alta citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC) e citotoxicidade dependente de complemento (CDC) (Presta 2008). A região constante de IgG1 humana do anticorpo monoclonal, fragmento de ligação ao antígeno do mesmo ou anticorpo competidor descrito no presente documento pode ser modificada para diminuir a meia vida e/ou diminuir a IgG endógena, incluindo, porém sem limitação, modificações de aminoácidos I253A (Petkova *et al.*, 2006); P257I/N434H, D376V/N434H (Datta-Mannan *et al.*, 2007); e M252Y/S254T/T256E/H433K/N434F (Vaccaro *et al.*, 2005).

[131] A região constante de IgG1 humana do anticorpo monoclonal, fragmento de ligação ao antígeno do mesmo ou anticorpo competidor descrito no presente documento pode ser modificada para aumentar ou diminuir as funções efetoras do anticorpo. Essas funções efetoras do anticorpo incluem, porém sem limitação, citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC), citotoxicidade dependente de complemento (CDC), fagocitose celular dependente de anticorpo (ADCP), ligação de C1q e ligação alterada aos receptores Fc.

[132] A região constante de IgG1 humana do

anticorpo monoclonal, fragmento de ligação ao antígeno do mesmo ou anticorpo competidor descrito no presente documento pode ser modificada para aumentar a função efetora do anticorpo, incluindo, porém sem limitação, modificações de aminoácidos S298A/E333A/K334 (Shields *et al.*, 2001); S239D/I332E e S239D/A330L/I332E (Lazar *et al.*, 2006); F234L/R292P/Y300L, F234L/R292P/Y300L/P393L e F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L (Stevenhagen *et al.*, 2007); G236A, G236A/S239D/I332E e G236A/S239D/A330L/I332E (Richards *et al.*, 2008); K326A/E333A, K326A/E333S e K326W/E333S (Idusogie *et al.*, 2001); S267E e S267E/L328F (Smith *et al.*, 2012); H268F/S324T, S267E/H268F, S267E/S234T e S267E/H268F/S324T (Moore *et al.*, 2010); S298G/T299A (Sazinsky *et al.*, 2008); E382V/M428I (Jung *et al.*, 2010).

[133] A região constante de IgG1 humana do anticorpo monoclonal, fragmento de ligação ao antígeno do mesmo ou anticorpo competidor descrito no presente documento pode ser modificada para diminuir a função efetora do anticorpo, incluindo, porém sem limitação, modificações de aminoácidos N297A e N297Q (Bolt *et al.*, 1993, Walker *et al.*, 1989); L234A/L235A (Xu *et al.*, 2000); K214T/E233P/L234V/L235A/G236-deletado/A327G/P331A/D356E/L358M (Ghevaert *et al.*, 2008); C226S/C229S/E233P/L234V/L235A (McEarchern *et al.*, 2007); S267E/L328F (Chu *et al.*, 2008).

[134] A região constante de IgG1 humana do anticorpo monoclonal, fragmento de ligação ao antígeno do mesmo ou anticorpo competidor descrito no presente documento pode ser modificada para diminuir a função efetora do anticorpo. incluindo, porém sem limitação, modificações de aminoácidos V234A/G237A (Cole *et al.*, 1999); E233D, G237D, P238D, H268Q,

H268D, P271G, V309L, A330S, A330R, P331S,
 H268Q/A330S/V309L/P331S, H268D/A330S/V309L/P331S,
 H268Q/A330R/V309L/P331S, H268D/A330R/V309L/P331S,
 E233D/A330R, E233D/A330S, E233D/P271G/A330R,
 E233D/P271G/A330S, G237D/H268D/P271G, G237D/H268Q/P271G,
 G237D/ P271G/A330R, G237D/ P271G/A330S,
 E233D/H268D/P271G/A330R, E233D/H268Q/P271G/A330R,
 E233D/H268D/P271G/A330S, E233D/H268Q/P271G/A330S,
 G237D/H268D/P271G/A330R, G237D/H268Q/P271G/A330R,
 G237D/H268D/P271G/A330S, G237D/H268Q/P271G/A330S,
 E233D/G237D/H268D/P271G/A330R,
 E233D/G237D/H268Q/P271G/A330R, E233D/G237D/H268D/P271G/A330S,
 E233D/G237D/H268Q/P271G/A330S, P238D/E233D/A330R,
 P238D/E233D/A330S, P238D/E233D/P271G/A330R,
 P238D/E233D/P271G/A330S, P238D/G237D/H268D/P271G,
 P238D/G237D/H268Q/P271G, P238D/G237D/ P271G/A330R,
 P238D/G237D/ P271G/A330S, P238D/E233D/H268D/P271G/A330R,
 P238D/E233D/H268Q/P271G/A330R, P238D/E233D/H268D/P271G/A330S,
 P238D/E233D/H268Q/P271G/A330S, P238D/G237D/H268D/P271G/A330R,
 P238D/G237D/H268Q/P271G/A330R, P238D/G237D/H268D/P271G/A330S,
 P238D/G237D/H268Q/P271G/A330S,
 P238D/E233D/G237D/H268D/P271G/A330R,
 P238D/E233D/G237D/H268Q/P271G/A330R,
 P238D/E233D/G237D/H268D/P271G/A330S,
 P238D/E233D/G237D/H268Q/P271G/A330S (An et al., 2009, Mimoto,
 2013).

[135] O anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou o anticorpo competidor descrito no presente documento pode ser do isotipo IgG2 humana.

[136] A região constante de IgG2 humana do

anticorpo monoclonal, fragmento de ligação ao antígeno do mesmo ou anticorpo competidor descrito no presente documento pode ser modificada para aumentar ou diminuir as funções efetoras do anticorpo. Essas funções efetoras do anticorpo incluem, porém sem limitação, citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC), citotoxicidade dependente de complemento (CDC), fagocitose celular dependente de anticorpo (ADCP) e ligação de C1q e ligação alterada aos receptores Fc.

[137] A região constante de IgG2 humana do anticorpo monoclonal, fragmento de ligação ao antígeno do mesmo ou de um anticorpo competidor descrito no presente documento pode ser modificada para aumentar a função efetora do anticorpo, incluindo, porém sem limitação, a modificação de aminoácido K326A/E333S (Idusogie et al., 2001).

[138] A região constante de IgG2 humana do anticorpo monoclonal, fragmento de ligação ao antígeno do mesmo ou anticorpo competidor descrito no presente documento pode ser modificada para diminuir a função efetora do anticorpo, incluindo, porém sem limitação, modificações de aminoácidos V234A/G237A (Cole et al., 1999); E233D, G237D, P238D, H268Q, H268D, P271G, V309L, A330S, A330R, P331S, H268Q/A330S/V309L/P331S, H268D/A330S/V309L/P331S, H268Q/A330R/V309L/P331S, H268D/A330R/V309L/P331S, E233D/A330R, E233D/A330S, E233D/P271G/A330R, E233D/P271G/A330S, G237D/H268D/P271G, G237D/H268Q/P271G, G237D/ P271G/A330R, G237D/ P271G/A330S, E233D/H268D/P271G/A330R, E233D/H268Q/P271G/A330R, E233D/H268D/P271G/A330S, E233D/H268Q/P271G/A330S, G237D/H268D/P271G/A330R, G237D/H268Q/P271G/A330R, G237D/H268D/P271G/A330S, G237D/H268Q/P271G/A330S,

E233D/G237D/H268D/P271G/A330R, E233D/G237D/H268Q/P271G/A330R,
E233D/G237D/H268D/P271G/A330S, E233D/G237D/H268Q/P271G/A330S,
P238D/E233D/A330R, P238D/E233D/A330S,
P238D/E233D/P271G/A330R, P238D/E233D/P271G/A330S,
P238D/G237D/H268D/P271G, P238D/G237D/H268Q/P271G,
P238D/G237D/ P271G/A330R, P238D/G237D/ P271G/A330S,
P238D/E233D/H268D/P271G/A330R, P238D/E233D/H268Q/P271G/A330R,
P238D/E233D/H268D/P271G/A330S, P238D/E233D/H268Q/P271G/A330S,
P238D/G237D/H268D/P271G/A330R, P238D/G237D/H268Q/P271G/A330R,
P238D/G237D/H268D/P271G/A330S, P238D/G237D/H268Q/P271G/A330S,
P238D/E233D/G237D/H268D/P271G/A330R,
P238D/E233D/G237D/H268Q/P271G/A330R,
P238D/E233D/G237D/H268D/P271G/A330S,
P238D/E233D/G237D/H268Q/P271G/A330S (An *et al.*, 2009, Mimoto,
2013).

[139] A região Fc de uma IgG2 humana do anticorpo monoclonal, fragmento de ligação ao antígeno do mesmo ou anticorpo competidor descrito no presente documento pode ser modificada para alterar a isoforma e/ou atividade agonística, incluindo, porém sem limitação, modificações de aminoácidos C127S (domínio CH1), C232S, C233S, C232S/C233S, C236S e C239S (White *et al.*, 2015, Lightle *et al.*, 2010).

[140] A região Fc de uma IgG2 humana do anticorpo monoclonal, fragmento de ligação ao antígeno do mesmo ou anticorpo competidor descrito no presente documento pode ser modificada para exibir capacidade de ligação a FcγR diminuída, mas ter a ligação a FcRn conservada. Esses mutantes de Fc de IgG possibilitam o alveijamento terapêutico de antígenos solúveis ou de superfície celular, enquanto minimizam o envolvimento associado a Fc de função efetora imune e

citotoxicidade mediada por complemento. Em uma modalidade, o mutante de Fc de IgG2 compreende V234A, G237A, P238S, de acordo com o sistema de numeração EU. Em uma outra modalidade, o mutante de Fc de IgG2 compreende V234A, G237A, H268Q ou H268A, V309L, A330S, P331S, de acordo com o sistema de numeração EU. Em um aspecto específico, o mutante de Fc de IgG2 compreende V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S, P331S e, opcionalmente, P233S, de acordo com o sistema de numeração EU.

[141] O anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou o anticorpo competidor descrito no presente documento pode ser do isotipo IgG3 humana.

[142] A região constante de IgG3 humana do anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, em que a dita região constante de IgG3 humana do anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, pode ser modificada em um ou mais aminoácidos para aumentar a meia vida do anticorpo, a citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC), a citotoxicidade dependente de complemento (CDC) ou a atividade de apoptose.

[143] A região constante de IgG3 humana do anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, em que a dita região constante de IgG3 humana do anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, pode ser modificada no aminoácido R435H para aumentar a meia vida do anticorpo.

[144] O anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou o anticorpo competidor descrito no presente documento pode ser do isotipo IgG4 humana.

[145] A região constante de IgG4 humana do anticorpo monoclonal, fragmento de ligação ao antígeno do mesmo

ou anticorpo competidor descrito no presente documento pode ser modificada para diminuir as funções efetoras do anticorpo. Essas funções efetoras do anticorpo incluem, porém sem limitação, citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC) e fagocitose celular dependente de anticorpo (ADCP).

[146] A região constante de IgG4 humana do anticorpo monoclonal, fragmento de ligação ao antígeno do mesmo ou anticorpo competidor descrito no presente documento pode ser modificada para impedir a troca de braço Fab e/ou diminuir a função efetora do anticorpo, incluindo, porém sem limitação, modificações de aminoácidos F234A/L235A (Alegre *et al.*, 1994); S228P, L235E e S228P/L235E (Reddy *et al.*, 2000).

[147] Conforme usado no presente documento, o termo "tumor" se refere a todo crescimento ou proliferação de células neoplásicas, maligno ou benigno, e a todas as células e tecidos pré-cancerosos ou cancerosos.

[148] Os termos "câncer", "canceroso" e "tumor" são mutuamente exclusivos conforme usado no presente documento.

[149] Os termos "câncer" e "canceroso" se referem ou descrevem a condição fisiológica em mamíferos que é tipicamente caracterizada por crescimento/proliferação de células aberrantes. Exemplos de cânceres incluem, porém sem limitação, carcinoma, linfoma (isto é, linfoma de Hodgkin e não Hodgkin), mieloma múltiplo, blastoma, sarcoma e leucemia. Exemplos mais específicos de tais cânceres incluem câncer de células escamosas, câncer de pulmão de células pequenas, câncer de pulmão de células não pequenas, adenocarcinoma do pulmão, carcinoma escamoso do pulmão, câncer do peritônio, câncer hepatocelular, câncer gastrointestinal, câncer pancreático,

glioma, câncer cervical, câncer de ovário, câncer de fígado, câncer de bexiga, hepatoma, câncer de mama, câncer de cólon, câncer colorretal, carcinoma endometrial ou uterino, carcinoma da glândula salivar, câncer de rim, câncer de fígado, câncer de próstata, câncer de vulva, câncer de tireoide, carcinoma hepático, leucemia e outros distúrbios linfoproliferativos, e vários tipos de câncer de cabeça e pescoço.

[150] O termo "câncer suscetível", conforme usado no presente documento, se refere a um câncer cujas células expressam CD47, IRP α ou CD47 e SIRP α e são responsivas ao tratamento com um anticorpo, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, ou um anticorpo competidor, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, da presente revelação que impede a interação entre CD47 e SIRP α .

[151] O termo "doença autoimune", conforme usado no presente documento, se refere a quando o sistema imune do corpo se volta contra si mesmo e, erroneamente, ataca células saudáveis.

[152] O termo "doença inflamatória", conforme usado no presente documento, se refere a uma doença caracterizada por inflamação, que é um processo patológico fundamental que consiste em um complexo dinâmico de mudanças citológicas histologicamente evidentes, infiltração celular e liberação de mediador que ocorre nos vasos sanguíneos afetados e tecidos adjacentes em resposta a uma lesão ou a um estímulo anormal provocado por um agente físico, químico ou biológico, incluindo as reações locais e as mudanças morfológicas resultantes; a destruição e remoção do material nocivo; e as respostas que levam ao reparo e à cura.

[153] O termo "doença autoinflamatória",

conforme usado no presente documento, se refere a uma doença que resulta quando o sistema imune inato provoca inflamação por motivos desconhecidos.

[154] Conforme usado no presente documento, o termo "tratamento", "tratar" ou "terapêutica" significa retardar, interromper, deter, controlar, parar, reduzir ou reverter a progressão ou gravidade de um sinal, sintoma, distúrbio, afecção ou doença, mas não necessariamente envolve uma eliminação total de todos os sinais, sintomas, afecções ou distúrbios relacionados à doença. O termo "tratamento" e semelhantes se referem a uma intervenção terapêutica que ameniza um sinal ou sintoma de uma doença ou condição patológica após o início do desenvolvimento.

[155] Conforme usado no presente documento, o termo "quantidade eficaz" se refere à quantidade ou dose de um composto de anticorpo da presente revelação que, mediante a administração de dose única ou de múltiplas doses a um paciente ou órgão, fornece o tratamento ou a prevenção desejada.

[156] A quantidade eficaz precisa para qualquer sujeito específico dependerá de seu tamanho e saúde, da natureza e extensão de sua condição e da terapêutica ou combinação de terapêuticas selecionada para administração. A quantidade eficaz para um dado paciente é determinada por experimento de rotina e está ao alcance do julgamento de um médico. Quantidades terapêuticamente eficazes dos presentes compostos de anticorpo podem também compreender uma quantidade na faixa de cerca de 0,1 mg/kg a cerca de 150 mg/kg, de cerca de 0,1 mg/kg a cerca de 100 mg/kg, de cerca de 0,1 mg/kg a cerca de 50 mg/kg ou de cerca de 0,05 mg/kg a cerca de 10 mg/kg por dose única administrada a um órgão colhido ou a um

paciente. Produtos farmacêuticos à base de anticorpo conhecidos fornecem orientação a esse respeito. Por exemplo, Herceptin™ é administrado por infusão intravenosa de uma solução de 21 mg/ml, com uma dose de carregamento inicial de 4 mg/kg de peso corporal e uma dose de manutenção semanal de 2 mg/kg de peso corporal; Rituxan™ é administrado semanalmente a 375 mg/m²; por exemplo.

[157] Uma quantidade terapeuticamente eficaz para qualquer paciente individual pode ser determinada pelo fornecedor de serviços de saúde monitorando-se o efeito dos compostos de anticorpo na regressão tumoral, células tumorais circulantes, células-tronco tumorais ou respostas antitumorais. A análise dos dados obtidos por esses métodos permite a modificação do regime de tratamento durante a terapia, de modo que quantidades ideais de compostos de anticorpo da presente revelação, empregados isoladamente ou em combinação entre si, ou em combinação com um outro agente terapêutico, ou ambos, sejam administradas e de modo que a duração do tratamento possa também ser determinada. Dessa forma, o regime de dosagem/tratamento pode ser modificado ao longo do curso de terapia de modo que quantidades mais baixas de compostos de anticorpo usados isoladamente ou em combinação, que exibem eficácia satisfatória, sejam administradas e de modo que a administração de tais compostos seja continuada apenas pelo período necessário para tratar o paciente com sucesso. Produtos farmacêuticos à base de anticorpo conhecidos fornecem orientação em relação à frequência de administração, por exemplo, se um produto farmacêutico deve ser administrado diariamente, semanalmente, mensalmente, etc. A frequência e a dosagem também dependem da gravidade dos sintomas.

[158] Em algumas modalidades, compostos de anticorpo da presente revelação podem ser usados como medicamentos em medicina humana e veterinária, administrados por uma variedade de vias, incluindo, porém sem limitação, vias oral, intravenosa, intramuscular, intra-arterial, intramedular, intraperitoneal, intratecal, intraventricular, transdérmica, transcutânea, tópica, subcutânea, intratumoral, intranasal, enteral, sublingual, intravaginal, intravesicular ou retal. As composições podem também ser administradas diretamente em uma lesão, como um tumor. O tratamento de dosagem pode ser um cronograma de dose única ou um cronograma de múltiplas doses. Hipoaspersores podem também ser usados para administrar as composições farmacêuticas. Tipicamente, as composições terapêuticas podem ser preparadas como injetáveis, como soluções ou suspensões líquidas. Formas sólidas adequadas para solução ou suspensão em veículos líquidos antes da injeção podem também ser preparadas. Aplicações veterinárias incluem o tratamento de animais de companhia/domésticos, como gatos e cães; animais de trabalho, como cães-guia ou de serviço e cavalos, animais desportivos, como cavalos e cães; animais de zoológico, como primatas, felinos, como leões e tigres, ursos, etc.; e outros animais valiosos mantidos em cativeiro.

[159] Tais composições farmacêuticas podem ser preparadas por métodos bem conhecidos na técnica. Consultar, por exemplo, *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 21ª edição (2005), Lippincott Williams e Wilkins, Filadélfia, PA, e compreendem um ou mais compostos de anticorpo revelados no presente documento e um carreador, diluente ou excipiente farmacêuticamente aceitável, por exemplo, fisiologicamente aceitável.

Indicações de câncer

[160] São presentemente revelados mAbs anti-SIRP α e fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos eficazes como terapêutica para câncer que podem ser administrados a pacientes, de preferência, parenteralmente, com cânceres hematológicos suscetíveis e tumores sólidos, incluindo, porém sem limitação, leucemias, incluindo mastocitose sistêmica, leucemia linfocítica aguda (linfoblástica) (ALL), ALL de células T, leucemia mieloide aguda (AML), leucemia mielogênica, leucemia linfocítica crônica (CLL), leucemia mieloide crônica (CML), distúrbio/neoplasma mieloproliferativo, leucemia de células monocíticas e leucemia de células plasmáticas; mieloma múltiplo (MM); macroglobulinemia de Waldenstrom; linfomas, incluindo linfoma histiocítico e linfoma de células T, linfomas de células B, incluindo linfoma de Hodgkin e linfoma não Hodgkin, como linfoma não Hodgkin de grau baixo/folicular (NHL), linfoma celular (FCC), linfoma de células do manto (MCL), linfoma difuso de células grandes (DLCL), NHL linfocítico pequeno (SL), NHL de grau intermediário/folicular, NHL difuso de grau intermediário, NHL imunoblástico de grau alto, NHL linfoblástico de grau alto, NHL de células pequenas não clivadas de alto grau, NHL de doença volumosa; tumores sólidos, incluindo câncer de ovário, câncer de mama, câncer endometrial, câncer de cólon (câncer colorretal), câncer retal, câncer de bexiga, câncer urotelial, câncer de pulmão (câncer de pulmão de células não pequenas, adenocarcinoma do pulmão, carcinoma de células escamosas do pulmão), câncer brônquico, câncer ósseo, câncer de próstata, câncer pancreático, câncer gástrico, carcinoma hepatocelular (câncer de fígado,

hepatoma), câncer de vesícula biliar, câncer de ducto biliar, câncer de esôfago, carcinoma de células renais, câncer de tireoide, carcinoma de células escamosas da cabeça e pescoço (câncer de cabeça e pescoço), câncer testicular, câncer da glândula endócrina, câncer da glândula adrenal, câncer da glândula pituitária, câncer da pele, câncer dos tecidos moles, câncer dos vasos sanguíneos, câncer cerebral, câncer dos nervos, câncer de olhos, câncer de meninges, câncer de orofaringe, câncer de hipofaringe, câncer de colo do útero e câncer de útero, glioblastoma, meduloblastoma, astrocitoma, glioma, meningioma, gastrinoma, neuroblastoma, síndrome mielodisplásica e sarcomas, incluindo, porém sem limitação, osteossarcoma, sarcoma de Ewing, leiomiossarcoma, sarcoma sinovial, sarcoma alveolar de partes moles, angiossarcoma, lipossarcoma, fibrossarcoma, rabdomiossarcoma e condrossarcoma; e melanoma.

Tratamento de câncer

[161] Conforme é bem conhecido por aqueles de habilidade comum na técnica, terapias de combinação são frequentemente empregadas no tratamento de câncer, visto que terapias ou procedimentos de agente único podem não ser suficientes para tratar ou curar a doença ou afecção. Tratamentos de câncer convencionais frequentemente envolvem cirurgia, tratamento com radiação, uma combinação de fármacos citotóxicos para alcançar efeitos aditivos ou sinérgicos ou combinações de qualquer uma ou de todas essas abordagens. Combinações de terapia quimioterápica ou biológica especialmente úteis empregam fármacos que funcionam por meio de mecanismos de ação diferentes, aumentando o controle ou extermínio de células cancerígenas, aumentando a capacidade do

sistema imune para controlar o crescimento de células cancerígenas, reduzindo a probabilidade de resistência ao fármaco durante a terapia e minimizando uma possível sobreposição de toxicidades permitindo-se o uso de doses reduzidas de fármacos individuais.

[162] Classes de agentes antitumorais e antineoplásicos convencionais úteis nas terapias de combinação abrangidas pelos presentes métodos são reveladas em *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 12ª edição (2010) L.L. Brunton, B.A. Chabner e B. C. Knollmann, edições, seção VIII, "Chemotherapy of Neoplastic Diseases", capítulos 60-63, páginas 1665-1770, McGraw-Hill, NY, incluem, porém sem limitação, antraciclinas, platinas, taxóis, inibidores de topoisomerase, antimetabólitos, antibióticos antitumorais, inibidores mitóticos e agentes alquilantes.

[163] Além do supracitado, os métodos da presente revelação estão relacionados ao tratamento de indicações de câncer e compreende, ainda, o tratamento do paciente por meio de cirurgia, radiação e/ou administração, a um paciente em necessidade do mesmo, de uma quantidade eficaz de uma molécula química pequena ou fármaco biológico, incluindo, porém sem limitação, um peptídeo, polipeptídeo, proteína, ácido nucleico terapêutico, convencionalmente usado ou atualmente em desenvolvimento, para tratar afecções tumorais. Isso inclui anticorpos e fragmentos de ligação ao antígeno, diferentes daqueles revelados no presente documento, citocinas, oligonucleotídeos antissenso, siRNAs e miRNAs.

[164] Os métodos terapêuticos revelados e reivindicados no presente documento incluem o uso dos anticorpos revelados no presente documento isoladamente e/ou

em combinações entre si e/ou com fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos da presente revelação que se ligam à SIRP α e/ou com anticorpos competidores que exibem atividade biológica/terapêutica adequada, bem como, por exemplo, todas as possíveis combinações desses compostos de anticorpo para alcançar uma melhor eficácia de tratamento.

[165] Além disso, os presentes métodos terapêuticos também abrangem o uso desses anticorpos, fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos, anticorpos competidores e combinações dos mesmos em outra combinação com: (1) um ou mais tratamentos terapêuticos antitumorais selecionados dentre cirurgia, radiação, agentes antitumorais e antineoplásicos ou combinações de qualquer um desses, ou (2) um ou mais dentre agentes biológicos antitumorais ou (3) equivalentes de qualquer um dos supracitados em (1) ou (2), conforme seria evidente para uma pessoa de habilidade comum na técnica, em combinação adequada (ou combinações adequadas) para alcançar o efeito de tratamento terapêutico desejado para a indicação específica.

[166] Anticorpos e fármacos de moléculas pequenas que aumentam a resposta imune ao câncer modulando-se interações coestimuladoras ou inibidoras que influenciam a resposta de células T aos antígenos tumorais, incluindo inibidores de pontos de verificação imunes e moduladores de moléculas coestimuladoras, são também de interesse específico no contexto dos métodos terapêuticos de combinação abrangidos no presente documento e incluem, porém sem limitação, outros anticorpos anti-SIRP α . A administração de agentes terapêuticos que se ligam à proteína SIRP α , por exemplo, anticorpos ou moléculas pequenas que se ligam à SIRP α e impedem a interação

entre CD47 e SIRP α , é administrada a um paciente, provocando a eliminação de células cancerígenas por meio de fagocitose. O agente terapêutico que se liga à proteína SIRP α é combinado com um agente terapêutico, como um anticorpo, uma molécula química pequena ou fármaco biológico que é dirigido contra um ou mais alvos celulares adicionais selecionados dentre CD47 (agrupamento de diferenciação 47), CD70 (agrupamento de diferenciação 70), CD200 (glicoproteína de membrana OX-2, agrupamento de diferenciação 200), CD154 (agrupamento de diferenciação 154, CD40L, ligante CD40, ligante de agrupamento de diferenciação 40), CD223 (gene 3 de ativação de linfócitos, LAG3, agrupamento de diferenciação 223), KIR (receptores semelhantes a imunoglobulinas de células exterminadoras), GITR (TNFRSF18, proteína relacionada a TNFR induzida por glicocorticoides, receptor da família TNRF induzível por ativação, AITR, membro 18 da superfamília do receptor do fator de necrose tumoral), CD20 (agrupamento de diferenciação 20), CD28 (agrupamento de diferenciação 28), CD40 (agrupamento de diferenciação 40, Bp50, CDW40, TNFRSF5, membro 5 da superfamília do receptor do fator de necrose tumoral, p50), CD86 (B7-2, agrupamento de diferenciação 86), CD160 (agrupamento de diferenciação 160, BY55, NK1, NK28), CD258 (LIGHT, agrupamento de diferenciação 258, membro 14 da superfamília do ligante do fator de necrose tumoral, TNFSF14, ligante de mediador de entrada de herpesvírus (HVEM-L), CD270 (HVEM, membro 14 da superfamília do receptor do fator de necrose tumoral, mediador de entrada de herpesvírus, agrupamento de diferenciação 270, LIGHTR, HVEA), CD275 (ICOSL, ligante ICOS, ligante coestimulador de células T induzível, agrupamento de diferenciação 275), CD276 (B7-H3, homólogo 3 de

B7, agrupamento de diferenciação 276), OX40L (ligante OX40), B7-H4 (homólogo 4 de B7, VTCN1, inibidor 1 de ativação de células T que contêm domínio fixado em V), GITRL (ligante do receptor do fator de necrose tumoral induzida por glicocorticoide, ligante TNFR induzido por glicocorticoide), 4-1BBL (ligante 4-1BB), CD3 (agrupamento de diferenciação 3, T3D), CD25 (IL2R α , agrupamento de diferenciação 25, cadeia α do receptor de interleucina-2, cadeia α do receptor de IL-2), CD48 (agrupamento de diferenciação 48, marcador de ativação de linfócitos B, BLAST-1, molécula de ativação linfocítica de sinalização 2, SLAMF2), CD66a (Ceacam-1, molécula 1 de adesão relacionada ao antígeno carcinoembrionário, glicoproteína biliar, BGP, BGP1, BGPI, agrupamento de diferenciação 66a), CD80 (B7-1, agrupamento de diferenciação 80), CD94 (agrupamento de diferenciação 94), NKG2A (grupo exterminador natural 2A, membro 1 da subfamília D receptor de célula exterminadora semelhante à lectina, KLRD1), CD96 (agrupamento de diferenciação 96, TActILE, expressão tardia aumentada pela ativação de células T), CD112 (PVRL2, nectina, relacionado ao receptor de poliovírus 2, mediador de entrada B de herpesvírus, HVEB, nectina-2, agrupamento de diferenciação 112), CD115 (CSF1R, receptor de fator 1 estimulador de colônia, receptor de fatos estimulador de colônia de macrófagos, M-CSFR, agrupamento de diferenciação 115), CD205 (DEC-205, LY75, antígeno linfocitário 75, agrupamento de diferenciação 205), CD226 (DNAM1, agrupamento de diferenciação 226, molécula 1 acessória DNAX, PTA1, antígeno 1 de ativação de plaquetas e células T), CD244 (agrupamento de diferenciação 244, receptor de células exterminadoras naturais 2B4), CD262 (DR5, TrailR2, TRAIL-R2, membro da superfamília do receptor do fator de

necrose tumoral 10b, TNFRSF10B, agrupamento de diferenciação 262, KILLER, TRICK2, TRICKB, ZTNFR9, TRICK2A, TRICK2B), CD284 (receptor semelhante a Toll 4, TLR4, agrupamento de diferenciação 284), CD288 (receptor semelhante a Toll 8, TLR8, agrupamento de diferenciação 288), fator inibidor de leucemia (LIF), TNFSF15 (membro 15 da superfamília do fator de necrose tumoral, inibidor de crescimento endotelial vascular, VEGI, TL1A), TDO2 (triptofano 2,3-dioxigenase, TPH2, TRPO), IGF-1R (fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1), GD2 (disialogangliosídeo 2), TMIGD2 (proteína 2 contendo domínio de imunoglobulina e transmembrana), RGMB (família de domínio RGM, membro B), VISTA (supressor contendo imunoglobulina de domínio V da ativação de células T, B7-H5, homólogo 5 de B7), BTNL2 (proteína e semelhante à butirofilina), Btn (família butirofilina), TIGIT (imunorreceptor de células T com domínios de Ig e ITIM, Vstm3, WUCAM), Siglecs (lectinas semelhantes a Ig de ligação ao ácido siálico), isto é, SIGLEC-15, neurofilina, VEGFR (receptor do fator de crescimento endotelial vascular), família ILT (LIRs, família de transcritos semelhantes a imunoglobulinas, receptores leucocitários semelhante a imunoglobulinas), famílias NKG (famílias do grupo exterminador natural, receptores transmembrana de lectina tipo C), MICA (sequência A relacionada ao polipeptídeo MHC classe I), TGF β (fator de crescimento β de transformação), via STING (estimulador de via do gene interferon), Arginase (arginina amidinase, canavanase, L-arginase, arginina transamidinase), EGFRvIII (variante III do receptor do fator de crescimento epidérmico), e HHLA2 (B7-H7, B7y, proteína de associação de HERV-H LTR 2, homólogo 7 de B7), inibidores de PD-1 (proteína de morte celular programada 1,

PD-1, CD279, agrupamento de diferenciação 279), PD-L1 (B7-H1, homólogo 1 de B7, ligante de morte programada 1, CD274, agrupamento de diferenciação 274), PD-L2 (B7-DC, ligante 2 de morte celular programada 1, PDCD1LG2, CD273, agrupamento de diferenciação 273), CTLA-4 (proteína 4 associada a linfócitos T citotóxicos, CD152, agrupamento de diferenciação 152), BTLA (atenuador de linfócitos B e T, CD272, agrupamento de diferenciação 272), indoleamina 2,3-dioxigenase (IDO, IDO1), TIM3 (HAVCR2, receptor celular 2 do vírus da hepatite A, mucina-3 de imunoglobulina de células T, KIM-3, molécula 3 de lesão renal, TIMD-3, domínio 3 da mucina de imunoglobulina de células T), receptor de adenosina A2A (receptor ADO), CD39 (ectonucleosídeo trifosfato difosfo-hidrolase-1, agrupamento de diferenciação 39, ENTPD1), e CD73 (Ecto-5'-nucleotidase, 5'-nucleotidase, 5'-NT, agrupamento de diferenciação 73), CD27 (agrupamento de diferenciação 27), ICOS (CD278, agrupamento de diferenciação 278, coestimulador de células T induzível), CD137 (4-1BB, agrupamento de diferenciação 137, membro 9 da superfamília do receptor do fator de necrose tumoral, TNFRSF9), OX40 (CD134, agrupamento de diferenciação 134), TNFSF25 (membro 25 da superfamília do receptor do fator de necrose tumoral), IL-10 (interleucina-10, fator inibidor da síntese de citocinas humanas, CSIF) e galectinas.

[167] ERBITUX® (cetuximabe, Bristol-Meyers Squibb) é um exemplo de um anticorpo monoclonal quimérico recombinante humano/de camundongo aprovado que se liga especificamente ao domínio extracelular do receptor do fator de crescimento epidérmico humano (EGFR).

[168] RITUXAN® (rituximabe, Biogen IDEC / Genentech) é um exemplo de um anticorpo anti-CD20 aprovado.

[169] YERVOY® (ipilimumabe; Bristol-Meyers Squibb) é um exemplo de um anticorpo anti-CTLA-4 aprovado.

[170] KEYTRUDA® (pembrolizumabe; Merck) e OPDIVO® (nivolumabe; Bristol-Meyers Squibb Company) são exemplos de anticorpos anti-PD-1 aprovados.

[171] TECENTRIQ™ (atezolizumabe; Roche) é um exemplo de um anticorpo anti-PD-L1 aprovado.

[172] BAVENCIO™ (avelumabe; Merck KGaA e Pfizer e Eli Lilly e Company) é um exemplo de um anticorpo anti-PD-L1 aprovado.

[173] IMFINZI™ (durvalumabe; Medimmune/AstraZeneca) é um exemplo de um anticorpo anti-PD-L1 aprovado.

[174] Os Exemplos ilustram várias modalidades da presente revelação, mas os mesmos não devem ser considerados limitadores da revelação a apenas essas modalidades particularmente reveladas.

EXEMPLOS

Exemplo 1

Sequências de aminoácidos

CDRs de cadeia leve

LCDR1		LCDR2		LCDR3	
SEQ ID NO:1	RASSGVNYMY	SEQ ID NO:2	YTSILAP	SEQ ID NO:3	QQFTSSPYT
SEQ ID NO:4	RASQSIGTSIH	SEQ ID NO:5	YGSESI	SEQ ID NO:6	QQSNTWPLT
SEQ ID NO:7	SASSIIGSDFLH	SEQ ID NO:8	RTSILAS	SEQ ID NO:9	QQGSGLPLT
SEQ ID NO:10	KASQDINSHLS	SEQ ID NO:11	RANRLAD	SEQ ID NO:12	LQYDEFPPYT
SEQ ID NO:13	SASSSVSYMY	SEQ ID NO:14	LTSNLAS	SEQ ID NO:15	QQWSGNPFT
SEQ ID NO:16	RASENIYSYLT	SEQ ID NO:17	NAKTLAE	SEQ ID NO:18	QHHYGSPT
SEQ ID NO:19	SASSSISSNFLH	SEQ ID NO:20	RTSILAS	SEQ ID NO:21	QQGSGLPLT
SEQ ID NO:22	SSVSY	SEQ ID NO:23	DTS	SEQ ID NO:24	QQWSSFPWT
SEQ ID NO:25	EDIYDR	SEQ ID NO:26	GTA	SEQ ID NO:27	QQYWTTPWT

SEQ ID NO:28	SSVNY	SEQ ID NO:29	YTS	SEQ ID NO:30	QQFTSSPFT
		SEQ ID NO:31	RANRLAT	SEQ ID NO:32	QQYDEFPYT

CDRs de cadeia pesada

HCDR1		HCDR2		HCDR3	
SEQ ID NO:33	KYWIE	SEQ ID NO:34	EILPGSVITNYNEKFKG	SEQ ID NO:35	WGLYSDDGDVDY
SEQ ID NO:36	GCTMS	SEQ ID NO:37	YISNGGDITYYPDTVKG	SEQ ID NO:38	LDGYYYAMDF
SEQ ID NO:39	SYVMH	SEQ ID NO:40	YINPYNDGPKYNEKFKG	SEQ ID NO:41	WDYFNSASGFAY
SEQ ID NO:42	DYFLN	SEQ ID NO:43	RINPYNGDSFINQNRD	SEQ ID NO:44	GGYDGYFIAYFDY
SEQ ID NO:45	SYTMH	SEQ ID NO:46	YINPTIGYTEYNQKFKD	SEQ ID NO:47	LVITSVLGRAMDY
SEQ ID NO:48	DYGVN	SEQ ID NO:49	WVNTNTRESTYVEDFKG	SEQ ID NO:50	GAYDAYYYYYGMDY
SEQ ID NO:51	TYVMH	SEQ ID NO:52	YINPNNDGPNYNEKFKG	SEQ ID NO:53	WDSYNSAAGFAY
SEQ ID NO:54	GFTLSTYT	SEQ ID NO:55	ITSGDITYT	SEQ ID NO:56	TRDRPLFH
SEQ ID NO:57	GYTFTDYE	SEQ ID NO:58	IHPGSGGT	SEQ ID NO:59	TRAVSGYYAMDY
SEQ ID NO:60	GYTFSNYL	SEQ ID NO:61	IYPGDNNT	SEQ ID NO:62	AGGTDYDGFAN
				SEQ ID NO:63	ARAVSGYYAMDY

**Sequências de domínio variável de cadeia leve (V_L)
murinas e sequências de domínio variável de cadeia leve (V_L)
humanos**

SEQ ID NO:64	ENVLTQSPAIMASASLGEKVTMSCRASSGVNMYWYQQKSDASPKLLIYYTSILAPGVPARFSGSGSGNS YSLTISSMEGEDAATYYCQQFTSSPYTFGGGKLEIK
SEQ ID NO:65	DILLTQSPAILSVSPGERVSVFSCRASQSIGTSHWYQQRRTNGSPRLLIKYGSEISIGIPSRFSGSGSGT DFTLSINSVESEDIADYYCQQSNTWPLTFGDGKLELK

SEQ ID NO:66	EIVLTQSPPTMAASPGEKITIICSASSIIGSDFLHWYQQRPGFSPKFLIYRRTSILASGVPTRFTGSGSG TSYSLTIGTMEAEDVATYYCQQGSGPLPLTFGSGTKLEMK
SEQ ID NO:67	DIKLTQSQSSMYSSLGQRVTITCKASQDINSHLSWFQEKPGKSPKTLIYRANRLADGVPSRFSGSGSGQ DYFLTISSEYEDVGIYYCLQYDEFPYTFGGGKLEIK
SEQ ID NO:68	QIVLTQSPALMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMYWFQKPRSSPKWIYLTSNLASGVPARFSGSGSGTS YSLTISSEAEADAATYYCQQWGNPFTFGSGTKLEIK
SEQ ID NO:69	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASENIYSYLTWYKQKQKSPQLLVYNAKTLAEGVPSRFSGSGSGT QFSLKINSLQPEDFGSYCQHHYGSPTFGGGKLEIK
SEQ ID NO:70	EIVLTQSPPTMAASPGEKITIICSASSISSNFLHWYQKPGFSPRFLIYRRTSILASGVPTRFSGSGSG TSYSLTIDTMEAEDVATYYCQQGSGPLPLTFGSGTKLEIK
SEQ ID NO:71	QIVLTQSPAIMASASPGEKVTMTCSASSSVSYMYWYQKPGSSPRLLIYDTSNLASGVPVRFSGSGSGTS YSLTISRMEAEADAATYYCQQWSSFPWTFGGGKLEIK
SEQ ID NO:72	DIQMTQSSSSFSGSLGDRLTINCKASEDIYDRVAWYQKPGNAPRLIISGTASLETGVLSRFSGSGSGK DYTLISINGLQAEDVATYYCQQYWTTPWTFGGGKLEIK
SEQ ID NO:73	ENVLTQSPAIMASASLGEKVTMSCRASSSVNYMYWYQKSDASPKLWIYYTSKLAPGVPARFSGSGSGNS YSLTISSEGEDAATYYCQQFTSSPFTFGSGTKLEIK
SEQ ID NO:74	DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCKASQDINSHLSWYQKPGKAPKLLIYRANRLATGVPSRFSGSGSGT DFTFTISSLQPEDIATYYCLQYDEFPYTFGGGKLEIK
SEQ ID NO:75	DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCKASQDINSHLSWYQKPGKAPKLLIYRANRLATGVPSRFSGSGSGT DFTFTISSLEIEDIATYYCLQYDEFPYTFGGGKLEIK
SEQ ID NO:76	DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCKASQDINSHLSWYQKPGKAPKLLIYRANRLATGVPSRFSGSGSGT DFTFTISSLQPEDIATYYCQQYDEFPYTFGGGKLEIK
SEQ ID NO:77	DIKMTQSPSSMYASLQQRVTITCKASQDINSHLSWFQEKPGKSPKTLIYRANRLADGVPSRFSGSGSGQ DYFLTISSEYEDVGIYYCLQYDEFPYTFGGGKLEIK

SEQ ID NO:78	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYDRVAWYQQKPGKAPKLLIYG TASLETGVPSRFSGSGSGT DFTFTISSLQPEDFATYYCQQYWTPWTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO:79	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYDRVAWYQQKPGKAPKLLIYG TASLETGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQQYWTPWTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO:80	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYDRVAWYQQKPGKAPKLLIYG TASLETGVLSRFSGSGSGT DFTLTISSLQAEDFATYYCQQYWTPWTFGGGTKVEIK

**Sequências de domínio variável de cadeia pesada (V_H)
murinas e sequências de domínio variável de cadeia pesada (V_H)
humanos**

SEQ ID NO:81	QVQLQQSGAELMKPGASVKISCKATGYSFTKYWIEWVKQRPGHGLEWIGEILPGSVITNYNEKFKGKATF TADTSSNTVYMQLSLTSSEDSAVYYCTKWGLYDSDDGVDYWGQGTTLTVSS
SEQ ID NO:82	EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFSFSGCTMSWIRQTPERRLEWVAYISNGGDITYPDTVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMSLKSSEDAMYYCARLDGYYYAMDFWGQGTSTVTVSS
SEQ ID NO:83	EVQLQQSGPEVVKPGASVKMSCKASGYTFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGPKYNEKFKGKATL TSDKSSSTAYMELSSLTSSEDSAVYFCARWDYFNSASGFAPWGQGTTLTVSA
SEQ ID NO:84	EVQLQQSGPDLVKPGASVKISCKASGYSTDYFLNHWKQSHGKSLWIGRINPYNGDSFINQNRDKATL TVDKSSTTAHMDLLSLTSSEDSAIYYCGRGGYDGYFIAYFDYWGQGSLLTVSA
SEQ ID NO:85	QVQLQQSAAELARPGASVKMSCKASGYTFTSYTMHWVKQRPGQGLEWIGYINPTIGYTEYNQKFKDKTTL TADKSSSTAYMQLSLTSSEDSAVYYCVRLVITSVLGRAMDYWGQGTSTVTVSS
SEQ ID NO:86	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYGVNHWKQGPGLDQWMGWVNTNTRESTYVEDFKGRFAF SLETSASTAYLQINNLKNESSSTYFCARGAYDAYYYYYGMDYWGQGTSTVTVSS

SEQ ID NO:87	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCRASGYTFSTYVMHWIKHRPGQGLEWIGYINPNNDGPNYNEKFKGKATL TSDISSSTAYMELSSLTSEDSAVYFCSRWDSYNSAAGFAYWGHGTLVTVSA
SEQ ID NO:88	EVQLQESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTLSTYTMWVRQTPEKRLEWVAIITSGDTYTYYPDSVKGRFTI SRDNAKNTLYLQMSLSEDTGMYICTRDRPLFHWGQGTTLTVST
SEQ ID NO:89	EVQLQESGAELVRPGASVKLSCKALGYTFDYEIHVKETPVYGLEWIGDIHPGSGGTANNQKFKGKATL TADKSSNTAYMELSSLTSEDSAVYYCTRAVSGYYAMDYWGQGTSTVTVSS
SEQ ID NO:90	EVQLQESGAELVRPGTSVKMSCKAAGYTFSNYLIGWIKRPGHGLEWIGDIYPGDNNTNYNEKFRVKATL TADTSSNTAYMHLTSLTSEDSAIYYCAGGTDYDGFANWGQGTTLVTVSA
SEQ ID NO:91	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYSTDYFLNWVRQAPGQGLEWMGRINPYNGDSFINQNFDRVTM TRDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARGGYDGYFIAYFDYWGAGTTVTVSS
SEQ ID NO:92	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYSTDYFLNWVRQAPGQGLEWMGRINPYNGDSFINQNFDRVTI TADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGGYDGYFIAYFDYWGAGTTVTVSS
SEQ ID NO:93	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSTDYFLNWVRQMPGKGLEWMGRINPYNGDSFINQNFDRQVTI SADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARGGYDGYFIAYFDYWGAGTTVTVSS
SEQ ID NO:94	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYSTDYFLNWVRQAPGQGLEWMGRINPYNGDSFINQNFDRVTM TVDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARGGYDGYFIAYFDYWGAGTTVTVSS
SEQ ID NO:95	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFDYEIHVVRQAPGQGLEWMGDIHPGSGGTANNQKFKGRVTM TRDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARAVSGYYAMDYWGQGTTLVTVSS

SEQ ID NO:96	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYEIHWVRQAPGQGLEWMGDIHPGSGGTANNQKFKGRVTI TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARAVSGYYAMDYWGQGLVTVSS
SEQ ID NO:97	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYEIHWVRQAPGQGLEWMGDIHPGSGGTANNQKFKGRVTM TADTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCTRAVSGYYAMDYWGQGLVTVSS

Sequências de cadeia leve (LC) murinas e sequências de cadeia leve (LC) humanas

SEQ ID NO:98	ENVLTQSPAIMASASLGEKVTMCRASSGVNMYWYQQKSDASPKLLIYYTILAPGVPARFSGSGGNSYSLTIS SMEGEDAATYYCQQFTSSPYTFGGGTKLEIKRADAAPTIVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKID GSERQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCETHKTSTSPIVKSFNRECE
SEQ ID NO:99	DILLTQSPAILSVSPGERVSVFSCRASQSIGTSHHWYQQRNGSPRLLIKYGESISGIPSRFSGSGGTDFTLSI NSVESEDIADYYCQQSNTWPLTFGDGTKLELKRADAAPTIVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKI DGSERQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCETHKTSTSPIVKSFNRECE
SEQ ID NO:100	EIVLTQSPPTMAASPGEKITIIICASSIIGSDFLHWYQQRPGFSPKFLIYRTSILASGVPTFRFTGSGGTSYSLT IGTMEAEDVATYYCQQGSLPLTFGGGTKLEMKRADAAPTIVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWK IDGSERQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCETHKTSTSPIVKSFNRECE
SEQ ID NO:101	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQDINSHLSWYQQKPGKAPKLLIYRANRLATGVPSRFSGSGGTDFTFTI SSLQPEDVATYYCLQYDEFPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCFLNNFYPREAKVQWVK DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYSLSSTLTLTKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SE	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINSHLSWYQQKPGKAPKLLIYRANRLATGVPSRFSGSGSGTDFFTTI
Q	SSLEYEDIATYYCLQYDEFPPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNIFYPREAKVQWKV
ID	DNALQSGNSQESVTEQDSKDYESTYLSSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
NO	
:1	
02	
SE	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINSHLSWYQQKPGKAPKLLIYRANRLATGVPSRFSGSGSGTDFFTTI
Q	SSLQPEDATYYCQYDEFPPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNIFYPREAKVQWKV
ID	DNALQSGNSQESVTEQDSKDYESTYLSSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
NO	
:1	
03	
SE	DIKMTQSPSSMYASLGQRVTITCKASQDINSHLSWFQEKPGKSPKLLIYRANRLADGVPSRFSGSGSGQDYFLTI
Q	SSLEYEDVGIYYCLQYDEFPPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNIFYPREAKVQWKV
ID	DNALQSGNSQESVTEQDSKDYESTYLSSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
NO	
:1	
04	
SE	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYDRVAWYQQKPGKAPKLLIYGTASLETGVPSRFSGSGSGTDFFTTI
Q	SSLQPEDATYYCQYWTTPWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNIFYPREAKVQWKV
ID	DNALQSGNSQESVTEQDSKDYESTYLSSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
NO	
:1	
05	
SE	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYDRVAWYQQKPGKAPKLLIYGTASLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTI
Q	SSLQPEDFATYYCQYWTTPWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNIFYPREAKVQWKV
ID	DNALQSGNSQESVTEQDSKDYESTYLSSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
NO	
:1	
06	
SE	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYDRVAWYQQKPGKAPKLLIYGTASLETGVLRSRFSGSGSGTDFTLTI
Q	SSLQAEDFATYYCQYWTTPWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNIFYPREAKVQWKV
ID	DNALQSGNSQESVTEQDSKDYESTYLSSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
NO	
:1	
07	

SE	DIQMTQSSSSFSGLGDRLTINCKASEDIYDRVAWYQQKPGNAPRLISGTASLETGVLSRFSGSGSGKDYTLISI
Q	NGLQAEDVATYYCQQYWTTPWTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV
ID	DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
NO	
:1	
08	

**Sequências de cadeia pesada (HC) murinas e
sequências de cadeia pesada (HC) humanas**

S	
E	
Q	QVQLQQSGAELMKPGASVKISCKATGYSFTKYIEWVKQRPGHGLEWIGEILPGSVITNYNEKFKGKATFTADTS
I	SNTVYMQLSLTSSEDSAVYYCTKWGLYDSDDGVDYWGQGTTLTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLV
D	KGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDKIVPRDCGC
N	KPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLITITLTPKVTQVVDISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRS
O	VSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPEDI
:	TVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLVQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNNHTEKSLSHSPGK
1	
0	
9	
S	
E	
Q	EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFSFSGCTMSWIRQTPERRLEWVAYISNGGDITYYPDTVKGFRFTISRDNA
I	KNSLYLQMSLKSSEDAMYCARLDGYYAMDFWGQTSVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKG
D	YFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDKIVPRDCGCKP
N	CICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLITITLTPKVTQVVDISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVS
O	ELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPEDITV
:	EWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLVQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNNHTEKSLSHSPGK
1	
1	
0	

<p>S E Q I D N O : 1 1 1</p>	<p>EVQLQQSGPEVVKPGASVKMSCKASGYTFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGPKYNEKFKGKATLTSDKS SSTAYMELSSLTSEDSAVYFCARWDYFNASGFAFWGQGLTLTVSAAKTTTPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLV KGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGC KPCICTVPEVSSVFIFFPKPKDVLTTITLTPKVTCVVVDISKDDPEVQFSWFVDDDEVHTAQTQPREEQFNSTFRS VSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPEDI TVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLVNQQSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTKSLSHSPGK</p>
<p>S E Q I D N O : 1 1 2</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYSFTDYFLNWRVQAPGQGLEWMGRINPYNGDSFINQNFDRVMTMRDTS TSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGGYDGYFIAFYDWGAGTTVTVSSASTKGPSVFPPLAPCSRSTSESTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYG PPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK</p>
<p>S E Q I D N O : 1 1 3</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYSFTDYFLNWRVQAPGQGLEWMGRINPYNGDSFINQNFDRVTTITADKS TSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGGYDGYFIAFYDWGAGTTVTVSSASTKGPSVFPPLAPCSRSTSESTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYG PPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK</p>

<p>S E Q I D N O : 1 1 4</p>	<p>EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTDYFLNWRQMPGKGLEWMGRINPYNGDSFINQNFRDQVTISADKS ISTAYLQWSSSLKASDTAMYICARGGYDGYFIAYFDYWGAGTTVTVSSASTKGPSVFPPLAPCSRSTSESTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTKTYTCNVDPHKPSNTKVDKRVESKYG PPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVSFCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK</p>
<p>S E Q I D N O : 1 1 5</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYSFTDYFLNWRQAPGQGLEWMGRINPYNGDSFINQNFRDRVTMTVDTS TSTVYMESSLRSEDTAVYICARGGYDGYFIAYFDYWGAGTTVTVSSASTKGPSVFPPLAPCSRSTSESTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTKTYTCNVDPHKPSNTKVDKRVESKYG PPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVSFCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK</p>
<p>S E Q I D N O : 1 1 6</p>	<p>EVQLQQSGPDLVKPGASVKISCKASGYSFTDYFLNWKQSHGKSLEWIGRINPYNGDSFINQNFRDKATLTVDKS STTAHMDLLSLTSEDSAIYYCGRGGYDGYFIAYFDYWGQGSLLVTVSAASTKGPSVFPPLAPCSRSTSESTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTKTYTCNVDPHKPSNTKVDKRVESKYG PPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVSFCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK</p>

S	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDDYEIHWVRQAPGQGLEWMGDIHPGSGGTANNQKFKGRVTMTRDTS
E	TSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARAVSGYYAMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKD
Q	YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPC
I	PPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYR
D	VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
N	IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLGLK
O	
:	
1	
1	
7	
S	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFDDYEIHWVRQAPGQGLEWMGDIHPGSGGTANNQKFKGRVTITADES
E	TSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARAVSGYYAMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKD
Q	YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPC
I	PPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYR
D	VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
N	IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLGLK
O	
:	
1	
1	
8	
S	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDDYEIHWVRQAPGQGLEWMGDIHPGSGGTANNQKFKGRVTMTADTS
E	TSTVYMELSSLRSEDTAVYYCTRAVSGYYAMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKD
Q	YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPC
I	PPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYR
D	VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
N	IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLGLK
O	
:	
1	
1	
9	

S	
E	
Q	
I	EVQLQESGAEIVRPGASVKLSCKALGYTFTDYEIHWVKETPVYGLEWIGDIHPGSGGTANNQKFKGKATLTADKS
D	SNTAYMELSSLTSEDSAVYYCTRAVSGYYAMDYWGQTSVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKD
N	YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPC
O	PPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYR
:	VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
1	IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGK
2	
0	

Sequências de SIRP α e SIRP γ

S	S	EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSVIPVGP IQWFRGAGPARELIYNQKE
E	I	GHFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITPADAGTYICVKFRKGS PDTEFKSGAG
Q	R	TELSVRAKPSAPVVSGPAARATPQHTVSFTCESHGFS PRDITLKWFKNGNELSD
I	P	FQTNVDPVGESVSYSIHSTAKVVLTR EDVHSQVICEVAHVTLQGDPLRGTANLS
D	α	ETIRVPPTLEVTQQPVRAENQVNVTCQVRKFY PQRQLQTLWLENGNVSRTETAST
N		VTENKDGTYNWMSWLLVNVSAHRDDVKLTCQVE HDGQPAVSKSHDLKVS AHPKE
O		QGSNTAAENTGSNERNIYIVGVVCTLLVALLMAALYLVRIRQKKAQGSTSSTR
:		LHEPEKNAREITQDTNDITYADLNLPKGKKPAPQAAEPNNHTEYASIQTSPQPA
1		SEDTLTYADLDMVHLNRTPKQPAPKPEPSFSEYASVQVPRK
2		
1		

S	S	EEELQMIQPEKLLLVTVGKTATLHCTVTSLLPVGPVLWFRGVGPGRELIYNQKE
E	I	GHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRISSITPADVGTYYICVKFRKGS PENVEFKSGP
Q	R	GTEMALGAKPSAPVVLGPAARTTPEHTVSFTCESHGFS PRDITLKWFKNGNELS
I	P	DFQTNVDPTGQSVAYSIRSTARVVLDPWDVRSQVICEVAHVTLQGDPLRGTANL
D	γ	SEAIRVPPTLEVTQQPMRVGNQVNVTCQVRKFY PQLQTLWSENGNVCQRETAS
N		TLTENKDGTYNWT SWFLVNI SDQRDDVVLTCQVKH DGLAVSKRLALEVT VHQK
O		DQSSDATPGPASSLTALLLI AVL LGPIYVPWKQKT
:		
1		
2		
2		

Sequências de Fc de IgG humana

IgG1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTP
de	SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
Fc	VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE

humana SEQ ID NO:1 23	KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
IgG1 - N297 Q de Fc humana SEQ ID NO:1 24	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPFAVLQSSGLYSLSSVTVP SSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDK KVEPKS CDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
IgG2 de Fc humana SEQ ID NO:1 25	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPFAVLQSSGLYSLSSVTVP SSNFGTQTYTCNV D HKPSNTKVDK TVERKCCVECP P PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTIS KTKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
IgG3 de Fc humana SEQ ID NO:1 26	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPFAVLQSSGLYSLSSVTVP SSSLGTQTYTCNVN HKPSNTKVDK RVELK TPLGDTTHTCPRCP EPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRC PEPKSCDTPPPCPRCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFKWYVDGVEVHN AKTKPREEQFNSTFRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSR EEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCSV MHE ALHNRFTQKSLSLSPGK
IgG4 de Fc humana na	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPFAVLQSSGLYSLSSVTVP SSSLGTQTYTCNV D HKPSNTKVDK RVE SKY GPPCP SCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS RLTVDKSRWQEGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSLG

SEQ ID NO:1 27	
IgG4 S228 P de Fc huma na SEQ ID NO:1 28	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSTLG
IgG4 PE de Fc huma na SEQ ID NO:1 29	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSTLGK
IgG4 PE' de Fc huma na SEQ ID NO:1 30	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSTLG
LC capa huma na	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO:1 31	
-------------------------	--

Exemplo 2

Ligação de anticorpos monoclonais SIRP à SIRP α

[175] A ligação de anticorpos monoclonais (mAbs) anti-SIRP da presente revelação à SIRP alfa (SIRP α) foi determinada por ELISA em fase sólida com o uso de uma SIRP alfa humana etiquetada com Fc. A ligação por anticorpos anti-SIRP solúveis foi medida *in vitro*.

[176] SIRP α humana etiquetada com Fc (ACRO n^o SIG-H5251, variante genotípica 1) é adsorvida em placas de microtitulação de alta ligação a uma concentração de 1 μ g/ml diluído em solução salina tamponada com fosfato (PBS) de um dia para o outro a 4 °C. A solução de revestimento é removida, os poços são lavados e, então, bloqueados com caseína a 75% em PBS contendo Tween 20 a 0,5% (PBST) por 60 minutos à temperatura ambiente durante agitação. A solução de bloqueio é removida, os poços são lavados e incubados por 60 minutos à temperatura ambiente durante agitação com mAbs anti-SIRP murinos ou humanos diluídos em PBST a uma concentração inicial de 30 μ g/ml e reduzindo-se a concentração em diluições em série de 3 vezes. Os poços são lavados três vezes com PBST e incubados por 60 minutos à temperatura ambiente durante agitação com um anticorpo secundário anti-camundongo ou anti-humano de jumento identificado com HRP (Jackson ImmunoResearch Laboratories) diluído em 1:10000 em PBST. Os poços são lavados e, então, incubados com substrato de peroxidase, e a absorvância a 450 nm é medida. As afinidades aparentes foram calculadas com o uso de um modelo de ajuste não linear (GraphPad Prism).

[177] Conforme mostrado na Tabela 1, todos os mAbs anti-SIRP solúveis ligados à SIRP α humana têm afinidades aparentes na faixa picomolar a nanomolar. **Figura 1A - Figura 1V** demonstram curvas de ligação representativas para anticorpos da presente revelação.

Tabela 1. Ligação de anticorpos anti-SIRP à SIRP α humana.

	K_d de ligação à SIRPα humana (pM)
SIRP1	39
SIRP2	182
SIRP3	289
SIRP4	161
SIRP5	65
SIRP6	131
SIRP7	197
SIRP8	57
SIRP9	583
SIRP10	>10,000
SIRP11	194
SIRP12	165
SIRP13	1,565
SIRP14	565
SIRP15	608
SIRP16	>40,000
SIRP17	326
SIRP18	364

SIRP19	>19,000
SIRP20	157
SIRP21	274
SIRP22	>11,000
SIRP23	164

*Exemplo 3*Ligação de mAbs anti-SIRP de camundongo à SIRP α que expressa células THP-1

[178] A atividade de ligação de anticorpos SIRP de camundongo derivados de hibridoma SIRP1, SIRP2 e SIRP3 a células THP-1 que expressam SIRP α , mas não SIRP γ , foi determinada por citometria de fluxo.

[179] As células THP-1 foram incubadas por 60 min a 37 °C com concentrações crescentes dos mAbs diluídos em PBS, pH 7,2. As células foram, então, lavadas com PBS e incubadas por mais uma hora com anticorpo anti-camundongo de jumento identificado com Alexa Fluor-647 (Jackson ImmunoResearch Laboratories) em PBS. As células foram lavadas, e a ligação foi analisada com o uso de um citômetro de fluxo C6 Accuri (Becton Dickinson).

[180] Conforme mostrado na **Figura 2**, todos os anticorpos se ligaram a células THP-1 que expressam SIRP α de uma maneira dependente da concentração.

*Exemplo 4*Ligação de mAbs SIRP à SIRP γ

[181] A ligação de anticorpos anti-SIRP da presente revelação à SIRP gama (SIRP γ) foi determinada por ELISA com o uso de uma SIRP γ humana etiquetada com Fc. A ligação por anticorpos anti-SIRP solúveis foi medida *in vitro*.

[182] A SIRP γ humana etiquetada com Fc (ACRO n°

SIG-H5253) é adsorvida em placas de microtitulação de alta ligação a uma concentração de 1 µg/ml em solução salina tamponada com fosfato (PBS) de um dia para o outro a 4 °C. A solução de revestimento é removida, os poços são lavados e, então, bloqueados com caseína a 75% em PBS contendo Tween 20 a 0,5% (PBST) por 60 minutos à temperatura ambiente durante agitação. A solução de bloqueio é removida, os poços são lavados e incubados por 60 minutos à temperatura ambiente durante agitação com mAbs anti-SIRP diluídos em PBST a uma concentração inicial de 30 µg/ml e reduzindo-se a concentração em diluições em série de 3 vezes. Os poços foram lavados três vezes com PBST e incubados por 60 minutos à temperatura ambiente durante agitação com um anticorpo secundário anti-camundongo ou anti-humano de jumento identificado com HRP (Jackson ImmonResearch Laboratories) diluído em 1:10000 em PBST. Os poços são lavados e, então, incubados com substrato de peroxidase, e a absorvância a 450 nm é determinada. As afinidades aparentes foram calculadas com o uso de um modelo de ajuste não linear (GraphPad Prism).

[183] Conforme mostrado na Tabela 2, os mAbs anti-SIRP solúveis SIRP2, SIRP3, SIRP4, SIRP5, SIRP6, SIRP7, SIRP9, SIRP10, SIRP11, SIRP12, SIRP16, SIRP17, SIRP18, SIRP20, SIRP21 e SIRP23 se ligaram à SIRP gama humana com afinidades aparentes na faixa de picomolar ou nanomolar. Adicionalmente, os mAbs anti-SIRP, SIRP1, SIRP8, SIRP13, SIRP14, SIRP15, SIRP19 e SIRP22, não se ligam significativamente à SIRP gama humana em concentrações de mAb de até 30 µg/ml. **Figura 3A - Figura 3V** demonstram curvas de ligação representativas derivadas de anticorpos da presente revelação.

Tabela 2. Ligação de anticorpos anti-SIRP à SIRP γ humana.

	K_d de ligação de SIRPγ humana (pM)
SIRP1	*NB
SIRP2	734
SIRP3	170
SIRP4	274
SIRP5	126
SIRP6	183
SIRP7	99
SIRP8	*NB
SIRP9	510
SIRP10	>10,000
SIRP11	7,223
SIRP12	>12,000
SIRP13	*NB
SIRP14	*NB
SIRP15	>14,000
SIRP16	*NB
SIRP17	>15,000
SIRP18	>34,000
SIRP19	*NB
SIRP20	>29,000
SIRP21	>21,000
SIRP22	*NB
SIRP23	225

*NB - nenhuma ligação detectada na concentração de mAb até 30 μ g/ml

*Exemplo 5*Ligação de mAbs de camundongo à SIRP γ que expressa células T Jurkat

[184] A atividade de ligação de mAbs SIRP derivados de hibridoma de camundongo a células Jurkat que expressam SIRP γ , mas não SIRP α , foi determinada por citometria de fluxo.

[185] As células Jurkat foram incubadas por 60 min a 37 °C, CO₂ a 5%, com concentrações crescentes dos mAbs anti-SIRP diluídos em solução salina tamponada com fosfato (PBS), pH 7,2. As células foram, então, lavadas com PBS e incubadas por mais uma hora com anticorpo anti-camundongo de jumento identificado com Alexa Fluor-647 (Jackson ImmunoResearch Laboratories) em PBS. As células foram lavadas, e a ligação foi analisada com o uso de um citômetro de fluxo C6 Accuri (Becton Dickinson). Alternativamente, as células foram incubadas por 1 h a 37 °C com a concentração de saturação de 10 μ g/ml de mAbs SIRP no tampão de ligação contendo EDTA 1 mM (Sigma Aldrich), FBS a 1% (Biowest) em PBS (Corning). As células foram, então, lavadas e manchadas por 45 min sob as mesmas condições com anticorpo secundário ligado a isotiocianato de fluoresceína (FITC) de IgG anti-camundongo de jumento (Jackson ImmunoResearch Laboratories). As células foram, então, lavadas e analisadas por citometria de fluxo (Attune, Life Technologies).

[186] Conforme mostrado na **Figura 4A**, SIRP3 se ligou a células Jurkat que expressam SIRP γ , enquanto SIRP2 ou SIRP1 não exibiu nenhuma ligação. Além disso, conforme mostrado na **Figura 4B**, SIRP9 se ligou a células Jurkat a uma concentração de 10 μ g/ml, comparável a KWAR-23 que se mostrou,

anteriormente, que se liga à SIRP γ , enquanto SIRP4 não exibiu nenhuma ligação à SIRP γ nas células Jurkat.

Exemplo 6

mAbs anti-SIRP bloqueiam ligação de CD47/SIRP α

[187] Para avaliar a capacidade de anticorpos anti-SIRP da presente revelação para bloquear a ligação de CD47 à SIRP α *in vitro*, o seguinte método foi empregado com o uso de placas de ELISA revestidas com SIRP α humana etiquetada com histidina (HIS).

[188] SIRP α humana etiquetada com HIS (ACRO n° SIG-H5225) é adsorvida em placas de microtitulação de alta ligação a uma concentração de 1 μ g/ml diluído em PBS de um dia para o outro a 4 °C. A solução de revestimento é removida, os poços são lavados e, então, bloqueados com caseína a 75% em PBS contendo Tween 20 a 0,5% (PBST) por 60 minutos à temperatura ambiente durante agitação. A solução de bloqueio é removida, os poços são lavados e incubados por 60 minutos à temperatura ambiente durante agitação com mAbs anti-SIRP diluídos em PBST a uma concentração inicial de 30 μ g/ml e reduzindo-se a concentração em diluições em série de 3 vezes. Os poços são lavados três vezes com PBST e incubados por 60 minutos à temperatura ambiente durante agitação com um CD47 humano etiquetado com FC (ACRO n° CD7-H5256) a uma concentração de 250 ng/ml em PBST. Os poços são lavados três vezes com PBST e incubados por 60 minutos à temperatura ambiente durante agitação com um anticorpo secundário anti-camundongo ou anti-humano de jumento identificado com HRP (Jackson ImmunoResearch Laboratories) diluído em 1:20000 em PBST. Os poços são lavados e, então, incubados com substrato de peroxidase, e a

absorvância a 450 nm é determinada. A IC₅₀ foi calculada com o uso de um modelo de ajuste não linear (GraphPad Prism).

[189] Conforme mostrado na Tabela 3, os mAbs anti-SIRP solúveis, SIRP2, SIRP3, SIRP4 e SIRP7, bloqueiam a ligação de SIRP α humana ao CD47 humano com valores de IC₅₀ na faixa nanomolar. Além disso, os mAbs anti-SIRP solúveis, SIRP1, SIRP5, SIRP6, SIRP8 e SIRP10, foram incapazes de bloquear a ligação de SIRP α humana ao CD47 humano a concentrações de mAb de até 30 μ g/ml. **Figura 5A - Figura 5G** demonstra curvas de inibição representativas derivadas dos anticorpos da presente revelação.

Tabela 3. Bloqueio de ligação de CD47/SIRP α por anticorpos anti-SIRP.

	Bloqueio de SIRPα (IC₅₀ nM)
SIRP1	*NB
SIRP2	3
SIRP3	2,7
SIRP4	0,71
SIRP5	*NB
SIRP6	*NB
SIRP7	1,1
SIRP8	*NB
SIRP10	*NB

*NB - nenhum bloqueio detectado na concentração de mAb concentração de até 30 μ g/ml

Exemplo 7

Anticorpos monoclonais anti-SIRP bloqueiam a ligação de CD47/SIRP γ

[190] Para avaliar o efeito de mAbs anti-SIRP da presente revelação na ligação de CD47 à SIRP γ *in vitro*, o seguinte método foi empregado com o uso de placas de ELISA revestidas com CD47 humano etiquetado com HIS.

[191] O CD47 humano etiquetado com HIS (ACRO n° CD7-H5227) é adsorvido em placas de microtitulação de alta ligação a uma concentração de 2 $\mu\text{g/ml}$ diluídos em PBS de um dia para o outro a 4 °C. A solução de revestimento é removida, os poços são lavados e, então, bloqueados com caseína a 75% em PBS que contém Tween 20 a 0,5% (PBST) por 60 minutos à temperatura ambiente durante agitação. A solução de bloqueio é removida, os poços são lavados e incubados por 60 minutos à temperatura ambiente durante agitação com mAbs anti-SIRP diluídos em PBST a uma concentração inicial de 30 $\mu\text{g/ml}$ e reduzindo-se a concentração em diluições em série de 3 vezes e 0,5 $\mu\text{g/ml}$ de SIRP γ humana (ACRO n° SIG-H5253). Os poços são lavados três vezes com PBST e incubados por 60 minutos à temperatura ambiente durante agitação com um anticorpo secundário anti-camundongo ou anti-humano de jumento identificado com HRP (Jackson ImmunoResearch Laboratories) diluído em 1:20000 em PBST. Os poços são lavados e, então, incubados com substrato de peroxidase, e a absorvância a 450 nm é determinada. A IC₅₀ foi calculada com o uso de um modelo de ajuste não linear (GraphPad Prism).

[192] Conforme mostrado na Tabela 4, os mAbs anti-SIRP solúveis, SIRP2, SIRP3, SIRP4, SIRP5, SIRP6 e SIRP7, bloqueiam a ligação de SIRP γ humana ao CD47 humano com valores de IC₅₀ na faixa nanomolar. Além disso, os mAbs anti-SIRP solúveis, SIRP1, SIRP8, SIRP9 e SIRP10, foram incapazes de bloquear a ligação de SIRP γ humana ao CD47 humano em

concentrações de mAb de até 30 µg/ml. **Figura 6A - Figura 6H** demonstram curvas de inibição representativas derivadas de anticorpos da presente revelação.

Tabela 4. Bloqueio de ligação de CD47/SIRPγ por anticorpos anti-SIRP.

	Bloqueio de SIRPγ (IC ₅₀ nM)
SIRP1	*NB
SIRP2	3,5
SIRP3	0,96
SIRP4	0,44
SIRP5	0,163
SIRP6	0,86
SIRP7	0,63
SIRP8	*NB
SIRP9	*NB
SIRP10	*NB

*NB - nenhum bloqueio detectado em concentração de mAb de até 30 µg/ml

Exemplo 8

mAbs anti-SIRP induzem fagocitose

[193] Para avaliar o efeito de mAbs anti-SIRP na fagocitose de células tumorais por macrófagos *in vitro*, o seguinte método foi empregado com o uso de citometria de fluxo.

[194] Macrófagos derivados de monócito humano foram derivados da leucaferese de sangue periférico humano saudável e incubados em meio AIM-V (Life Technologies) suplementado com 50 ng/ml de M-CSF (Biolegend) por sete dias. Para o ensaio de fagocitose *in vitro*, macrófagos foram

recolocados em placas a uma concentração de 3×10^4 células por poço em 100 μ l de meio AIM-V suplementado com 50 ng/ml de M-CSF em uma placa de 96 poços e permitiu-se a adesão por 24 horas. Uma vez que os macrófagos efetores aderiram ao prato de cultura, as células cancerígenas humanas tidas como alvo (Jurkat) foram identificadas com éster N-succinimidílico de diacetato de 5(6)-carboxifluoresceína 1 μ M (CFSE; Sigma Aldrich) e adicionadas às culturas de macrófagos a uma concentração de 8×10^4 células em 100 μ l de meio AIM-V sem suplementos. Os mAbs anti-SIRP foram adicionados em várias concentrações, **Figura 7A**, ou 10 μ g/ml dos anticorpos, **Figura 7B**, imediatamente após a mistura de células alvo e efetoras e permitiu-se a incubação a 37 °C por 3 horas. Após 3 horas, todas células não fagocitadas foram removidas, e as células restantes foram lavadas três vezes com PBS. As células foram, então, incubadas em Accutase (Stemcell Technologies) para separar macrófagos, coletadas em tubos de microcentrifuga e incubadas em 100 ng de anticorpos CD14 identificados ao alofococianina (APC) (BD biosciences) por 30 minutos, lavadas uma vez e analisadas por citometria de fluxo (Attune, Life Technologies) quanto à porcentagem de células CD14⁺ que eram também CFSE⁺, indicando fagocitose completa.

[195] Conforme mostrado na **Figura 7A** e na **Figura 7B**, os mAbs anti-SIRP solúveis, SIRP4, SIRP9, SIRP11, SIRP12, SIRP13, SIRP14, SIRP15, SIRP16, SIRP17, SIRP18, SIRP19, SIRP20, SIRP21, SIRP22 e SIRP23, induziram a fagocitose de células Jurkat por macrófagos humanos em comparação a um anticorpo de controle de IgG1 murino (Biolegend). Em contrapartida, os mAbs anti-SIRP solúveis, SIRP1, SIRP2,

SIRP3, SIRP7, SIRP8 e SIRP10, não induziram a fagocitose de células Jurkat por macrófagos humanos.

Exemplo 9

mAbs anti-SIRP induzem a fagocitose quando combinados com um anticorpo anti-CD47

[196] Para avaliar o efeito de mAbs anti-SIRP e mAbs anti-CD47 em combinação na indução de fagocitose de células tumorais por macrófagos *in vitro*, o seguinte método foi empregado com o uso de citometria de fluxo.

[197] Macrófagos derivados de monócito humano foram derivados da leucaferese de sangue periférico humano saudável e incubados em meio AIM-V (Life Technologies) suplementado com 50 ng/ml de M-CSF (Biolegend) por sete dias. Para o ensaio de fagocitose *in vitro*, macrófagos foram recolocados em placas a uma concentração de 3×10^4 células por poço em 100 μ l de meio AIM-V suplementado com 50 ng/ml de M-CSF em uma placa de 96 poços e permitiu-se a adesão por 24 horas. Uma vez que os macrófagos efetores aderiram ao prato de cultura, as células cancerígenas humanas tidas como alvo (Jurkat) foram identificadas com éster N-succinimidílico de diacetato de 5(6)-carboxifluoresceína 1 μ M (CFSE; Sigma Aldrich) e adicionadas às culturas de macrófagos a uma concentração de 8×10^4 células em 100 μ l de meio AIM-V sem suplementos. mAbs anti-SIRP isoladamente, um mAb anti-CD47 (conhecido por induzir a fagocitose) isoladamente ou mAbs anti-SIRP e anti-CD47 em conjunto foram adicionados em várias concentrações imediatamente após a mistura de células alvo e efetoras e permitiu-se a incubação a 37 °C por 3 horas. Após 3 horas, todas células não fagocitadas foram removidas, e as células restantes foram lavadas três vezes com PBS. As células

foram, então, incubadas em Accutase (Stemcell Technologies) para separar macrófagos, coletadas em tubos de microcentrífuga e incubadas em 100 ng de anticorpos CD14 identificados ao alofococianina (APC) (BD biosciences) por 30 minutos, lavadas uma vez e analisadas por citometria de fluxo (Attune, Life Technologies) quanto à porcentagem de células CD14⁺ que eram também CFSE⁺, indicando fagocitose completa.

[198] Conforme mostrado na **Figura 8A - Figura 8J**, todos os mAbs anti-SIRP solúveis, SIRP1, SIRP2, SIRP3, SIRP4, SIRP5, SIRP7, SIRP12, SIRP20, SIRP21 e SIRP22, aumentam a fagocitose de células Jurkat por macrófagos humanos para um grau mais elevado quando combinados com mAbs anti-CD47 em comparação a qualquer agente isoladamente.

Exemplo 10

mAbs anti-SIRP induzem a fagocitose em combinação com Rituxan

[199] Para avaliar o efeito de mAbs anti-SIRP e mAbs anti-CD20 em combinação na indução de fagocitose de células tumorais por macrófagos *in vitro*, o seguinte método foi empregado com o uso de citometria de fluxo.

[200] Macrófagos derivados de monócito humano foram derivados da leucaferese de sangue periférico humano saudável e incubados em meio AIM-V (Life Technologies) suplementado com 50 ng/ml de M-CSF (Biolegend) por sete dias. Para o ensaio de fagocitose *in vitro*, macrófagos foram recolocados em placas a uma concentração de 3×10^4 células por poço em 100 μ l de meio AIM-V suplementado com 50 ng/ml de M-CSF em uma placa de 96 poços e permitiu-se a adesão por 24 horas. Uma vez que os macrófagos efetores aderiram ao prato de cultura, as células cancerígenas humanas tidas como alvo (RAJI)

foram identificadas com éster N-succinimidílico de diacetato de 5(6)-carboxifluoresceína 1 μM (CFSE; Sigma Aldrich) e adicionadas às culturas de macrófagos a uma concentração de 8×10^4 células em 100 μl de meio AIM-V sem suplementos. mAbs anti-SIRP isoladamente, um mAb anti-CD20 (Rituxan, Roche) isoladamente ou mAbs anti-SIRP e anti-CD20 em conjunto foram adicionados em várias concentrações imediatamente após a mistura de células alvo e efetoras e permitiu-se a incubação a 37 °C por 3 horas. Após 3 horas, todas células não fagocitadas foram removidas, e as células restantes foram lavadas três vezes com PBS. As células foram, então, incubadas em Accutase (Stemcell Technologies) para separar macrófagos, coletadas em tubos de microcentrífuga e incubadas em 100 ng de anticorpos CD14 identificados ao alofococianina (APC) (BD biosciences) por 30 minutos, lavadas uma vez e analisadas por citometria de fluxo (Attune, Life Technologies) quanto à porcentagem de células CD14⁺ que eram também CFSE⁺, indicando fagocitose completa.

[201] Conforme mostrado na **Figura 9A - Figura 9D**, todos os mAbs anti-SIRP solúveis, SIRP1, SIRP2, SIRP3 e SIRP7, aumentaram a fagocitose de células RAJI por macrófagos humanos para um grau mais elevado quando combinados com mAbs anti-CD20 em comparação com qualquer agente isoladamente.

Exemplo 11

mAbs anti-SIRP induzem a fagocitose em combinação com Erbitux e Avelumabe

[202] Para avaliar o efeito de mAbs anti-SIRP e mAbs anti-EGRF ou mAbs anti-PD-L1 em combinação na indução de fagocitose de células tumorais por macrófagos *in vitro*, o seguinte método foi empregado com o uso de citometria de fluxo.

[203] Macrófagos derivados de monócito humano foram derivados da leucaferese de sangue periférico humano saudável e incubados em meio AIM-V (Life Technologies) suplementado com 50 ng/ml de M-CSF (Biolegend) por sete dias. Para o ensaio de fagocitose *in vitro*, macrófagos foram recolocados em placas a uma concentração de 3×10^4 células por poço em 100 μ l de meio AIM-V suplementado com 50 ng/ml de M-CSF em uma placa de 96 poços e permitiu-se a adesão por 24 horas. Uma vez que os macrófagos efetores aderiram ao prato de cultura, as células cancerígenas humanas tidas como alvo (FaDu ou ES-2) foram identificadas com éster N-succinimidílico de diacetato de 5(6)-carboxifluoresceína 1 μ M (CFSE; Sigma Aldrich) e adicionadas às culturas de macrófagos a uma concentração de 8×10^4 células em 100 μ l de meio AIM-V sem suplementos. mAbs anti-SIRP isoladamente, um mAb anti-EGFR (Erbix, Bristol-Myers Squibb) isoladamente, um mAb anti-PD-L1 (Avelumabe, Pfizer) ou mAbs anti-SIRP e anti-EGFR em conjunto foram adicionados em várias concentrações imediatamente após a mistura de células alvo e efetoras e permitiu-se a incubação a 37 °C por 3 horas. Após 3 horas, todas células não fagocitadas foram removidas, e as células restantes foram lavadas três vezes com PBS. As células foram, então, incubadas em Accutase (Stemcell Technologies) para separar macrófagos, coletadas em tubos de microcentrífuga e incubadas em 100 ng de anticorpos CD14 identificados ao alofocianina (APC) (BD biosciences) por 30 minutos, lavadas uma vez e analisadas por citometria de fluxo (Attune, Life Technologies) quanto à porcentagem de células CD14⁺ que eram também CFSE⁺, indicando fagocitose completa.

[204] Conforme mostrado na **Figura 10A**, SIRP4 de mAb anti-SIRP solúvel aumentou a fagocitose de células FaDu por macrófagos humanos para um grau mais elevado quando combinada com mAbs anti-EGFR em comparação com qualquer agente isoladamente. Conforme mostrado na **Figura 10B**, SIRP4 de mAb anti-SIRP solúvel aumentou a fagocitose de células ES-2 por macrófagos humanos para um grau mais elevado quando combinada com mAbs anti-PD-L1 em comparação a qualquer agente isoladamente.

Exemplo 12

mAbs anti-SIRP se ligam a macrófagos e células dendríticas humanas

[205] Para avaliar a ligação de mAbs anti-SIRP à SIRP α que expressa células, como macrófagos humanos e células dendríticas, o seguinte método foi empregado com o uso de citometria de fluxo.

[206] Monócitos CD14⁺ humanos, isolados de células mononucleares de sangue periférico (Astarte Biologics) foram diferenciados *in vitro* por sete dias em macrófagos ou células dendríticas. Para diferenciação de macrófagos, monócitos foram incubados em meio AIM-V (Life Technologies) suplementado com 50 ng/ml de M-CSF (Biolegend) por sete dias. Para diferenciação de células dendríticas, monócitos foram incubados em meio AIM-V (Life Technologies) na presença de soro AB humano a 10% (Valley Biomedical), 200 ng/ml de GM-CSF (Biolegend) e 50 ng/ml de IL-4 (Biolegend). As células foram incubadas por 1 h a 37 °C, CO₂ a 5%, com diluições em série de mAbs SIRP em tampão de ligação contendo EDTA 1 mM (Sigma Aldrich) e FBS a 1% (Biowest) em PBS (Corning). As células foram, então, lavadas e manchadas por 45 min sob as mesmas

condições com anticorpo secundário ligado a isotiocianato de fluoresceína (FITC) de IgG anti-camundongo de jumento (Jackson ImmunoResearch Laboratories). As células foram subsequentemente manchadas com anti-CD14 ou anti-CD11c conjugado ao fluoróforo de Alexa Fluor 647 (Biolegend e Life Technologies, respectivamente) por 30 min em gelo, lavadas e analisadas por citometria de fluxo (Attune, Life Technologies). A ligação foi avaliada como a intensidade de fluorescência FITC média de células CD14⁺ ou CD11c⁺, subtraídas de células manchadas com apenas o anticorpo secundário.

[207] Conforme mostrado na Tabela 5, os mAbs anti-SIRP solúveis, SIRP3, SIRP4, SIRP5 e SIRP9, bem como OSE-18D5 e KWAR-23, se ligaram à SIRP α com expressão celular em células dendríticas e/ou macrófagos com afinidades aparentes na faixa picomolar. **Figura 11** demonstra curvas de ligação representativas derivadas dos anticorpos da presente revelação.

Tabela 5. Ligação de mAbs anti-SIRP à SIRP α que expressa células humanas.

	K _a de ligação de macrófagos humanos (pM)	K _a de ligação de células dendríticas humanas (pM)
SIRP3	ND*	3,47
SIRP4	20,7	50
SIRP5	ND*	770
SIRP9	93,7	ND*
18D5	37,3	41,2
KWAR-23	ND*	23,4

*Não determinada

*Exemplo 13*mAbs anti-SIRP exibem ligação variável a células T CD3⁺ humanas

[208] Para avaliar a ligação de mAbs anti-SIRP em células T CD3 humanas, o seguinte método foi empregado com o uso de citometria de fluxo.

[209] Células T CD3 humanas, isoladas de células mononucleares de sangue periférico (Astarte Biologics), foram incubadas em placas de fundo em V de 96 poços a $2,5 \times 10^5$ células/poço por 1 h a 37 °C, CO₂ a 5%, com diluições em série de mAbs SIRP em tampão de ligação contendo EDTA 1 mM (Sigma Aldrich), FBS a 1% (Biowest) em PBS (Corning). As células foram, então, lavadas e manchadas por 45 min sob as mesmas condições com anticorpo secundário ligado a isotiocianato de fluoresceína (FITC) de IgG anti-camundongo de jumento (Jackson ImmunoResearch Laboratories). As células foram subsequentemente manchadas com anti-CD3 conjugado ao fluoróforo (BioLegend) de 3-carboxi-6,8-difluoro-7-hidroxycoumarina (Pacific Blue) por 30 min em gelo, lavadas e analisadas por citometria de fluxo (Attune, Life Technologies). A ligação foi avaliada como a intensidade de fluorescência FITC média de células CD3⁺, subtraídas de células CD3⁺ manchadas com apenas o anticorpo secundário. Todos os anticorpos SIRP foram gerados no local, exceto o LSB2.20 (BioLegend). Para células T ativadas, antes do ensaio de ligação, as células T CD3 foram ativadas por 72 h em uma placa de fundo plano de 96 poços revestida com 10 µg/ml de anti-CD3 (clone UCHT1; BioLegend), a 1×10^5 células/poço na presença de 0,5 µg/ml de anti-CD28 (clone CD28.2; BioLegend).

[210] Conforme mostrado na Tabela 6, a SIRP3, SIRP7, SIRP9, KWAR-23 solúvel e o anticorpo específico para SIRP γ LSB2.20 se ligam às células T com afinidades na faixa picomolar. As afinidades de mAbs anti-SIRP, SIRP4, SIRP5 e OSE-18D5 são muito menores e estão na faixa nanomolar. **Figura 12A, Figura 12B e Figura 12C** demonstram curvas de ligação representativas derivadas dos anticorpos da presente revelação.

Tabela 6. Ligação de anticorpos anti-SIRP à SIRP γ que expressa células T humanas.

	K _d de ligação de células T humanas (pM)	K _d de ligação de células T humanas (pM)	K _d de ligação de células T humanas (pM)
	Virgem	Virgem	Ativada
SIRP3	80,7	ND	ND
SIRP4	NC*	NC*	NC*
SIRP5	NC*	NC*	NC*
SIRP7	83,9	ND	ND
SIRP9	ND	1410	263
18D5	8410	NC*	NC*
KWAR-23	4,04	1,59	6,22
LSB2,20	750	1260	950

*NC Não calculado; intensidades de fluorescência médias foram comparáveis com o nível de origem de mIgG1

**Não determinado.

Exemplo 14

mAbs anti-SIRP não bloqueiam ligação de CD47 solúvel/SIRP γ celular

[211] Para avaliar o efeito de anticorpos anti-SIRP da presente revelação no bloqueio da ligação de CD47 solúvel à SIRP γ que expressa células, o seguinte método foi empregado com o uso de CD47 humano etiquetado com Fc de IgG1 humana solúvel.

[212] Células T humanas de ALL (Jurkat) foram incubadas a $2,5 \times 10^5$ células/poço por 1 h a 37 °C, CO₂ a 5%, com 10 μ g/ml de mAbs anti-SIRP em tampão de ligação contendo EDTA 1 mM (Sigma Aldrich), FBS a 1% (Biowest) em PBS (Corning). Depois disso, CD47 humano etiquetado com Fc de IgG1 humana solúvel (ACRO n° CD7-H5256) foi adicionado para uma concentração final de 50 μ g/ml, e as células foram incubadas conforme anteriormente por mais 1 h. As células foram, então, lavadas extensivamente e manchadas por 45 min sob as mesmas condições com anticorpo anti-humano de jumento conjugado a Alexa Fluor 647 (Jackson ImmunoResearch). As amostras foram analisadas por citometria de fluxo (Attune, Life Technologies). Para análise, o manchamento de Fc de IgG1 humana de origem na ausência de CD47 etiquetado com Fc solúvel foi subtraído da intensidade média de fluorescência com Alexa Fluor 647. O bloqueio foi avaliado como a redução na intensidade de fluorescência média corrigida em relação à de origem de Alexa Fluor 647 na presença de mAbs SIRP em comparação com controle de IgG1 murina (Biolegend, MOPC-21).

[213] Conforme mostrado na Tabela 7, os mAbs anti-SIRP solúveis, SIRP4, SIRP9 e OSE 18D5, não bloquearam a ligação de SIRP γ com expressão celular ao CD47 solúvel humano.

KWAR-23 não bloqueia a ligação de SIRP γ de expressão celular Jurkat ao CD47 solúvel humano.

Tabela 7. Bloqueio de ligação de CD47/SIRP γ por anticorpos anti-SIRP.

	Bloqueio de ligação de CD47 solúvel à SIRP γ em Jurkat
SIRP4	Sem bloqueio
SIRP9	Sem bloqueio
OSE 18D5	Sem bloqueio
KWAR-23	Bloqueio

Exemplo 15

mAbs anti-SIRP bloqueiam a ligação de CD47 solúvel/SIRP α celular

[214] Para avaliar o efeito de anticorpos anti-SIRP da presente revelação na ligação de CD47 solúvel à SIRP α que expressa células, o seguinte método foi empregado com o uso de macrófagos humanos de CD47 humano etiquetado com Fc de IgG1 humana solúvel.

[215] Monócitos CD14⁺ humanos, isolados de células mononucleares de sangue periférico (Astarte Biologics), foram diferenciados *in vitro* por sete dias em meio AIM-V (Life Technologies) suplementado com 50 ng/ml de M-CSF (Biolegend). Os receptores Fc de macrófagos foram, então, bloqueados com solução de bloqueio de receptor Fc humano (Biolegend) por 20 min à temperatura ambiente. As células foram, então, lavadas e incubadas por 1 h a 37 °C, CO₂ a 5%, com 10 μ g/ml de mAbs anti-SIRP em tampão de ligação contendo EDTA 1 mM (Sigma Aldrich), FBS a 1% (Biowest) em PBS (Corning). Depois disso, CD47 humano etiquetado com Fc de IgG1 humana

solúvel (ACRO nº CD7-H5256) foi adicionado para uma concentração final de 20 µg/ml, e as células foram incubadas conforme anteriormente por mais 1 h. As células foram, então, lavadas extensivamente e manchadas por 45 min sob as mesmas condições com anticorpo anti-humano de jumento conjugado a Alexa Fluor 647 (Jackson ImmunoResearch). As amostras foram analisadas por citometria de fluxo (Attune, Life Technologies). Para análise, o manchamento de Fc de IgG1 humana de origem na ausência de CD47 etiquetado com Fc solúvel foi subtraído da intensidade média de fluorescência com Alexa Fluor 647. O bloqueio foi avaliado como a redução na intensidade de fluorescência média corrigida em relação à de origem de Alexa Fluor 647 na presença de mAbs SIRP em comparação com controle de IgG1 murina (Biolegend, MOPC-21). Quatro doadores de monócitos diferentes foram usados nesses ensaios com um mínimo e três doadores por anticorpo testado.

[216] Conforme mostrado na **Figura 13**, os mAbs anti-SIRP solúveis, SIRP4 e SIRP9, bloqueiam a ligação de SIRP α com expressão celular em macrófagos ao CD47 solúvel humano. O mAb OSE 18D5 não bloqueia a ligação de SIRP α com expressão celular ao CD47 solúvel humano.

Exemplo 16

mAbs anti-SIRP não inibem a proliferação de células

T

[217] Para avaliar o efeito de mAbs anti-SIRP na proliferação de células T induzida por células dendríticas alogênicas *in vitro*, o seguinte método foi empregado com o uso de citometria de fluxo.

[218] Células dendríticas derivadas de monócitos humanos foram geradas incubando-se monócitos CD14⁺ (Astarte

Biologics) em meio AIM-V (Life Technologies) suplementado com soro AB humano a 10% (Valley Biomedical), 200 ng/ml de GM-CSF (Biolegend) e 50 ng/ml de IL-4 (Biolegend) por seis dias, com adição de meio fresco repleto de citocinas no Dia 2. Para o ensaio de cocultura de células dendríticas alogênicas e células T, células dendríticas imaturas foram recolocadas em uma placa de 96 poços a uma concentração de 1×10^5 células por poço. Células T CD3⁺ derivadas de doador alogênico saudável identificado com corante de proliferação celular fluorescente CellTrace™ Violet (Life Technologies) de quatro doadores diferentes (Astarte Biologics) foram adicionadas à cultura a uma razão DC: células T de 1:5. Os mAbs anti-SIRP foram adicionados imediatamente na concentração de saturação de 10 µg/ml, e as células foram incubadas a 37 °C, CO₂ a 5%, por 6-7 dias em um volume total de 200 µl. As células foram, então, separadas raspando-se os poços com pontas de pipeta e lavadas em tampão de classificação celular ativado por fluorescência (FBS a 1%, Biowest, em PBS). As células foram, então, incubadas com anticorpo CD3 identificado com corante fluorescente PerCP-Cy5.5 (Biolegend) por 30 minutos em gelo, lavadas uma vez e analisadas por citometria de fluxo (Attune, Life Technologies). A proliferação de células T foi medida pela diluição do corante CellTrace™ Violet na população de células CD3⁺.

[219] Conforme mostrado na **Figura 14A** e na **Figura 14B**, os mAbs anti-SIRP, SIRP3, SIRP4, SIRP5, SIRP9, SIRP11, SIRP12, SIRP13, SIRP14, SIRP15, SIRP17, SIRP18, SIRP20, SIRP21, SIRP23 e OSE-18D5 não tiveram efeito significativo na proliferação de células T em comparação com o anticorpo de controle (Biolegend). Em contrapartida, KWAR-23, que bloqueia

a ligação tanto de SIRP α como de SIRP γ ao CD47 inibiu a proliferação de células T.

Exemplo 17

mAbs anti-SIRP não inibem resposta de memória de células T específicas para antígeno

[220] Para avaliar o efeito de mAbs anti-SIRP na resposta de memória do antígeno em células T *in vitro*, o seguinte método foi empregado com o uso de citometria de fluxo.

[221] Células mononucleares de sangue periférico humano de um doador soropositivo para citomegalovírus (Astarte Biologics) foram identificadas com corante de proliferação celular fluorescente CellTrace™ Violet (Life Technologies) e semeadas em 200000 células/poço em uma placa de 96 poços. As células foram, então, incubadas com diferentes concentrações de antígeno para citomegalovírus (Astarte Biologics) em meio AIM-V (Life Technologies) suplementado com soro AB humano a 10% (Valley Biomedical), que induz um estímulo dependente de antígeno de proliferação de células T. mAbs anti-SIRP bem como um mAb anti-CD47, clone B6H12, (Biolegend) foram adicionados imediatamente na concentração de saturação de 10 μ g/ml, e as células foram incubadas a 37 °C, CO₂ a 5%, por cinco dias. A proliferação de células T foi medida pela diluição do corante CellTrace™ Violet na população de células CD4⁺.

[222] Conforme mostrado na **Figura 15**, os mAbs anti-SIRP solúveis, SIRP4, SIRP5 e SIRP9, não inibiram a capacidade de células T para estimular uma resposta de memória do antígeno para CMV. Em contrapartida, o clone B6H12 do anticorpo anti-CD47, que é conhecido por inibir respostas de células T, reduziu a proliferação de células T em comparação com o anticorpo de controle de IgG1 murino (Biolegend).

Exemplo 18

Sequência de anticorpo SIRP α

<u>Anti-</u> <u>corpo</u>	<u>L</u> <u>C</u> <u>D</u> <u>R</u> <u>1</u>	<u>L</u> <u>C</u> <u>D</u> <u>R</u> <u>2</u>	<u>L</u> <u>C</u> <u>D</u> <u>R</u> <u>3</u>	<u>H</u> <u>C</u> <u>D</u> <u>R</u> <u>1</u>	<u>H</u> <u>C</u> <u>D</u> <u>R</u> <u>2</u>	<u>H</u> <u>C</u> <u>D</u> <u>R</u> <u>3</u>
	<u>(SEQ</u> <u>ID</u> <u>NO:)</u>	<u>(SEQ</u> <u>ID</u> <u>NO:)</u>	<u>(SEQ</u> <u>ID</u> <u>NO:)</u>	<u>(SEQ</u> <u>ID</u> <u>NO:)</u>	<u>(SEQ</u> <u>ID</u> <u>NO:)</u>	<u>(SEQ</u> <u>ID</u> <u>NO:)</u>
SIRP1	1	2	3	33	34	35
SIRP2	4	5	6	36	37	38
SIRP3	7	8	9	39	40	41
SIRP4	10	11	12	42	43	44
SIRP5	13	14	15	45	46	47
SIRP6	16	17	18	48	49	50
SIRP7	19	20	21	51	52	53
SIRP8	22	23	24	54	55	56
SIRP9	25	26	27	57	58	59
SIRP10	28	29	30	60	61	62
SIRP11	10	31	12	42	43	44
SIRP12	10	31	12	42	43	44
SIRP13	10	31	32	42	43	44
SIRP14	10	31	12	42	43	44
SIRP15	10	31	12	42	43	44
SIRP16	10	31	32	42	43	44
SIRP17	10	31	12	42	43	44
SIRP18	10	31	12	42	43	44
SIRP19	10	31	32	42	43	44
SIRP20	10	31	12	42	43	44
SIRP21	10	31	12	42	43	44
SIRP22	10	31	32	42	43	44
SIRP23	10	11	12	42	43	44

<u>Anti-</u> <u>corpo</u>	<u>LCDR1</u>	<u>LCDR2</u>	<u>LCDR3</u>	<u>HCDR1</u>	<u>HCDR2</u>	<u>HCDR3</u>
	<u>(SEQ</u> <u>ID</u> <u>NO:)</u>	<u>(SEQ</u> <u>ID</u> <u>NO:)</u>	<u>(SEQ</u> <u>ID</u> <u>NO:)</u>	<u>(SEQ</u> <u>ID</u> <u>NO:)</u>	<u>(SEQ</u> <u>ID</u> <u>NO:)</u>	<u>(SEQ</u> <u>ID</u> <u>NO:)</u>
SIRP24	25	26	27	57	58	63
SIRP25	25	26	27	57	58	63
SIRP26	25	26	27	57	58	63
SIRP27	25	26	27	57	58	63
SIRP28	25	26	27	57	58	63
SIRP29	25	26	27	57	58	63
SIRP30	25	26	27	57	58	59
SIRP31	25	26	27	57	58	59
SIRP32	25	26	27	57	58	59
SIRP33	25	26	27	57	58	63
	<u>V_L</u> <u>(SEQ</u> <u>ID</u> <u>NO:)</u>	<u>V_H</u> <u>(SEQ</u> <u>ID</u> <u>NO:)</u>	<u>LC</u> <u>(SEQ</u> <u>ID</u> <u>NO:)</u>	<u>HC</u> <u>(SEQ</u> <u>ID</u> <u>NO:)</u>		
SIRP1	64	81	98	109		
SIRP2	65	82	99	110		
SIRP3	66	83	100	111		
SIRP4	67	84				
SIRP5	68	85				
SIRP6	69	86				
SIRP7	70	87				
SIRP8	71	88				
SIRP9	72	89				
SIRP10	73	90				
SIRP11	74	91	101	112		

<u>Anti-</u> <u>corpo</u>	<u>LCDR1</u> <u>(SEQ</u> <u>ID</u> <u>NO:)</u>	<u>LCDR2</u> <u>(SEQ</u> <u>ID</u> <u>NO:)</u>	<u>LCDR3</u> <u>(SEQ</u> <u>ID</u> <u>NO:)</u>	<u>HCDR1</u> <u>(SEQ</u> <u>ID</u> <u>NO:)</u>	<u>HCDR2</u> <u>(SEQ</u> <u>ID</u> <u>NO:)</u>	<u>HCDR3</u> <u>(SEQ</u> <u>ID</u> <u>NO:)</u>
SIRP12	75	91	102	112		
SIRP13	76	91	103	112		
SIRP14	74	92	101	113		
SIRP15	75	92	102	113		
SIRP16	76	92	103	113		
SIRP17	74	93	101	114		
SIRP18	75	93	102	114		
SIRP19	76	93	103	114		
SIRP20	74	94	101	115		
SIRP21	75	94	102	115		
SIRP22	76	94	103	115		
SIRP23	77	84	104	116		
SIRP24	78	95	105	117		
SIRP25	79	95	106	117		
SIRP26	80	95	107	117		
SIRP27	78	96	105	118		
SIRP28	79	96	106	118		
SIRP29	80	96	107	118		
SIRP30	78	97	105	119		
SIRP31	79	97	106	119		
SIRP32	80	97	107	119		
SIRP33	72	89	108	120		

REIVINDICAÇÕES

1. ANTICORPO MONOCLONAL, OU FRAGMENTO DE LIGAÇÃO AO ANTÍGENO DO MESMO, caracterizado por se ligar especificamente a SIRP α humana, que compreende três regiões determinantes de complementaridade de cadeia leve (LCDR1, LCDR2, LCDR3) e três regiões determinantes de complementaridade de cadeia pesada (HCDR1, HCDR2, HCDR3), em que LCDR1, LCDR2 e LCDR3 são selecionados dentre:

LCDR1		LCDR2		LCDR3	
SEQ ID NO:1	RASSGVNYMY	SEQ ID NO:2	YTSILA P	SEQ ID NO:3	QQFTSSPY T
SEQ ID NO:4	RASQSIGTSIH	SEQ ID NO:5	YGSESI S	SEQ ID NO:6	QQSNTWPL T
SEQ ID NO:7	SASSIIGSDFL H	SEQ ID NO:8	RTSILA S	SEQ ID NO:9	QQGSGLPL T
SEQ ID NO:10	KASQDINSHLS	SEQ ID NO:11	RANRLA D	SEQ ID NO:12	LQYDEFPY T
SEQ ID NO:13	SASSSVSYMY	SEQ ID NO:14	LTSNLA S	SEQ ID NO:15	QQWSGNPF T
SEQ ID NO:16	RASENIYSYLT	SEQ ID NO:17	NAKTLA E	SEQ ID NO:18	QHHYGSPR T
SEQ ID NO:19	SASSSISNFL H	SEQ ID NO:20	RTSILA S	SEQ ID NO:21	QQGSGLPL T
SEQ ID NO:22	SSVSY	SEQ ID NO:23	DTS	SEQ ID NO:24	QQWSSFPW T
SEQ ID NO:25	EDIYDR	SEQ ID NO:26	GTA	SEQ ID NO:27	QQYWTPPW T
SEQ ID NO:28	SSVNY	SEQ ID NO:29	YTS	SEQ ID NO:30	QQFTSSPF T
		SEQ ID NO:31	RANRLA T	SEQ ID NO:32	QQYDEFPY T

e em que HCDR1, HCDR2 e HCDR3 são selecionados dentre:

HCDR1		HCDR2		HCDR3	
SEQ ID NO:33	KYWIE	SEQ ID NO:34	EILPGSVITNYNEKFKG	SEQ ID NO:35	WGLYDSDDGVDY
SEQ ID NO:36	GCTMS	SEQ ID NO:37	YISNGGDITYYPDTVKG	SEQ ID NO:38	LDGYYYAMDF
SEQ ID NO:39	SYVMH	SEQ ID NO:40	YINPYNDGPKYNEKFKG	SEQ ID NO:41	WDYFNSASGFAF
SEQ ID NO:42	DYFLN	SEQ ID NO:43	RINPYNGDSFINQNRD	SEQ ID NO:44	GGYDGYFIAYFDY

HCDR1		HCDR2		HCDR3	
SEQ ID NO:45	SYTMH	SEQ ID NO:46	YINPTIGYTEYNQKFKD	SEQ ID NO:47	LVITSVLGRAMDY
SEQ ID NO:48	DYGVN	SEQ ID NO:49	WVNTNTRESTYVEDFKG	SEQ ID NO:50	GAYDAYYYYYYGM DY
SEQ ID NO:51	TYVMH	SEQ ID NO:52	YINPNNDGPNYNEKFKG	SEQ ID NO:53	WDSYNSAAGFAY
SEQ ID NO:54	GFTLSTYT	SEQ ID NO:55	ITSGDTYT	SEQ ID NO:56	TRDRPLFH
SEQ ID NO:57	GYTFTDYE	SEQ ID NO:58	IHPGSGGT	SEQ ID NO:59	TRAVSGYYAMDY
SEQ ID NO:60	GYTFSNYL	SEQ ID NO:61	IYPGDNNT	SEQ ID NO:62	AGGTDYDGFAN
		SEQ ID NO:34	EILPGSVITNYNEKFKG	SEQ ID NO:63	ARAVSGYYAMDY

2. ANTICORPO MONOCLONAL, OU FRAGMENTO DE LIGAÇÃO AO ANTÍGENO DO MESMO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo anticorpo monoclonal ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo ser quimérico ou humanizado.

3. ANTICORPO MONOCLONAL, OU FRAGMENTO DE LIGAÇÃO AO ANTÍGENO DO MESMO, de acordo com a reivindicação 1 a 2, caracterizado por compreender uma combinação de um domínio variável de cadeia pesada (V_H) e domínio variável de cadeia leve (V_L), em que a combinação é selecionada dentre o grupo que consiste em:

i. um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:81 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:64;

ii. um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:82 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:65;

iii.um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:83 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:66;

iv.um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:84 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:67;

v.um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:85 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:68;

vi.um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:86 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:69;

vii.um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:87 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:70;

viii.um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:88 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:71;

ix.um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:89 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:72;

x.um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:90 e um domínio

variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:73;

xi.um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:91 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:74;

xii.um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:91 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:75;

xiii.um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:91 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:76;

xiv.um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:92 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:74;

xv.um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:92 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:75;

xvi.um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:92 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:76;

xvii.um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:93 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:74;

xviii.um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:93 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:75;

xix.um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:93 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:76;

xx.um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:94 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:74;

xxi.um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:94 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:75;

xxii.um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:94 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:76;

xxiii.um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:84 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:77;

xxiv.um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:95 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:78;

xxv.um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:95 e um domínio

variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:79;

xxvi.um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:95 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:80;

xxvii.um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:96 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:78;

xxviii.um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:96 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:79;

xxix.um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:96 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:80;

xxx.um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:97 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:78;

xxxi.um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:97 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:79;

xxxii.um domínio variável de cadeia pesada compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:97 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:80; e

xxxiii. um domínio variável de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:89 e um domínio variável de cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:72.

4. ANTICORPO MONOCLONAL OU FRAGMENTO DE LIGAÇÃO AO ANTÍGENO DO MESMO, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado por compreender pelo menos uma cadeia pesada e pelo menos uma cadeia leve selecionada dentre o grupo que consiste em

i. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:109 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:98;

ii. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:110 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:99;

iii. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:111 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:100;

iv. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:112 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:101;

v. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:112 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:102;

vi. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:112 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:103;

vii. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:113 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:101;

viii.uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:113 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:102;

ix.uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:113 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:103;

x.uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:114 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:101;

xi.uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:114 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:102;

xii.uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:114 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:103;

xiii.uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:115 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:101;

xiv.uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:115 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:102;

xv.uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:115 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:103;

xvi.uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:116 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:104;

xvii.uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:117 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:105;

xviii. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:117 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:106;

xix. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:117 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:107;

xx. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:118 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:105;

xxi. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:118 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:106;

xxii. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:118 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:107;

xxiii. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:119 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:105;

xxiv. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:119 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:106;

xxv. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:119 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:107; e

xxvi. uma cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:120 e uma cadeia leve que compreende a sequência de aminoácidos SEQ ID NO:108.

5. ANTICORPO MONOCLONAL OU FRAGMENTO DE LIGAÇÃO AO ANTÍGENO DO MESMO, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo anticorpo monoclonal

ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo compreender um isotipo IgG selecionado dentre IgG1, IgG1-N297Q, IgG2, IgG4, IgG4 S228P, IgG4 PE e variantes dos mesmos.

6. ANTICORPO MONOCLONAL OU FRAGMENTO DE LIGAÇÃO AO ANTÍGENO DO MESMO, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado por se ligar ao SIRP γ humano além do SIRP α humano.

7. ANTICORPO MONOCLONAL OU FRAGMENTO DE LIGAÇÃO AO ANTÍGENO DO MESMO, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado por se ligar seletivamente a SIRP α humano.

8. ANTICORPO MONOCLONAL OU FRAGMENTO DE LIGAÇÃO AO ANTÍGENO DO MESMO, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, caracterizado por exibir atividade antitumoral.

9. ANTICORPO MONOCLONAL OU FRAGMENTO DE LIGAÇÃO AO ANTÍGENO DO MESMO, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, caracterizado por aumentar a fagocitose de células tumorais humanas.

10. ANTICORPO MONOCLONAL OU FRAGMENTO DE LIGAÇÃO AO ANTÍGENO DO MESMO, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, caracterizado pelo anticorpo monoclonal ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo ser um anticorpo biespecífico.

11. ANTICORPO BIESPECÍFICO, conforme definido na reivindicação 10, caracterizado pelo anticorpo biespecífico reconhecer um primeiro antígeno e um segundo antígeno, em que o primeiro antígeno é SIRP α e o segundo antígeno é um marcador de uma célula que expressa CD47.

12. ANTICORPO BIESPECÍFICO, conforme definido na reivindicação 10, caracterizado pelo anticorpo biespecífico reconhecer um primeiro antígeno e um segundo antígeno, em que o primeiro antígeno é SIRP α e o segundo antígeno é selecionado dentre CD19, CD20, CD22, CD24, CD25, CD30, CD33, CD40, CD44, HER2, CD52, CD56, CD70, CD96, CD97, CD99, CD123, CD279 (PD-1), CD117, C-Met, PTHR2, EGFR, RANKL, SLAMF7, PD-L1, CD38, CD19/CD3, HAVCR2 (TIM3) e GD2.

13. ANTICORPO MONOCLONAL OU FRAGMENTO DE LIGAÇÃO AO ANTÍGENO DO MESMO, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, caracterizado por aumentar a fagocitose de células tumorais humanas em combinação com um segundo anticorpo dirigido contra um alvo celular escolhido dentre CD47 (Agrupamento de Diferenciação 47), CD70 (Agrupamento de Diferenciação 70), CD200 (OX-2 glicoproteína de membrana, Agrupamento de Diferenciação 200), CD154 (Agrupamento de Diferenciação 154, CD40L, ligante CD40, ligante de Agrupamento de Diferenciação 40), CD223 (Gene 3 de ativação de linfócitos, LAG3, Agrupamento de Diferenciação 223), KIR (Receptores semelhantes a imunoglobulinas de células exterminadoras), GITR (TNFRSF18, proteína relacionada ao TNFR induzida por glicocorticoides, receptor da família TNFR induzível por ativação, AITR, Membro 18 da superfamília do receptor do fator de necrose tumoral), CD20 (Agrupamento de Diferenciação), CD28 (Agrupamento de Diferenciação 28), CD40 (Agrupamento de Diferenciação 40, Bp50, CDW40, TNFRSF5, Membro 5 da superfamília do receptor do fator de necrose tumoral, p50), CD86 (B7-2, Agrupamento de Diferenciação 86), CD160 (Agrupamento de Diferenciação 160, BY55, NK1, NK28), CD258 (LIGHT, Agrupamento de Diferenciação 258, Membro 14 da

superfamília do ligante do fator de necrose tumoral, TNFSF14, ligante de mediador de entrada de herpesvírus (HVEM-L), CD270 (HVEM, Membro 14 da superfamília do receptor do fator de necrose tumoral, mediador de entrada de herpesvírus, Agrupamento de Diferenciação 270, LIGHTR, HVEA), CD275 (ICOSL, ligante ICOS, ligante coestimulador de célula T induzível, Agrupamento de Diferenciação 275), CD276 (B7-H3, homólogo 3 de B7, Agrupamento de Diferenciação 276), OX40L (Ligante OX40), B7-H4 (homólogo 4 de B7, VTCN1, Inibidor 1 de ativação de células T que contêm domínio fixado em V), GITRL (Ligante do receptor do fator de necrose tumoral induzida por glicocorticoide, ligante TNFR induzido por glicocorticoide), 4-1BBL (ligante 4-1BB), CD3 (Agrupamento de Diferenciação 3, T3D), CD25 (IL2R α , Agrupamento de Diferenciação 25, Cadeia α do receptor de interleucina-2, Cadeia α do receptor de IL-2), CD48 (Agrupamento de Diferenciação 48, Marcador de ativação de linfócitos B, BLAST-1, molécula de ativação linfocítica de sinalização 2, SLAMF2), CD66a (Ceacam-1, Molécula 1 de adesão celular relacionada ao antígeno carcinoembrionário, glicoproteína biliar, BGP, BGP1, BGPI, Agrupamento de Diferenciação 66a), CD80 (B7-1, Agrupamento de Diferenciação 80), CD94 (Agrupamento de Diferenciação 94), NKG2A (Grupo exterminador natural 2A, membro 1 da subfamília D receptor de célula exterminadora semelhante à lectina, KLRD1), CD96 (Agrupamento de Diferenciação 96, TActILE, Expressão tardia aumentada pela ativação de células T), CD112 (PVRL2, nectina, Relacionado ao receptor de poliovírus 2, mediador de entrada B de herpesvírus, HVEB, nectina-2, Agrupamento de Diferenciação 112), CD115 (CSF1R, Receptor de fator 1 estimulador de colônia, receptor de fator estimulador de

colônia de macrófago, M-CSFR, Agrupamento de Diferenciação 115), CD205 (DEC-205, LY75, Antígeno linfocitário 75, Agrupamento de Diferenciação 205), CD226 (DNAM1, Agrupamento de Diferenciação 226, DNAX Molécula 1 Acessória, PTA1, antígeno 1 de ativação de plaquetas e células T), CD244 (Agrupamento de Diferenciação 244, Receptor de células exterminadoras naturais 2B4), CD262 (DR5, TrailR2, TRAIL-R2, membro da superfamília do receptor do fator de necrose tumoral 10b, TNFRSF10B, Agrupamento de Diferenciação 262, EXTERMINADORA, TRICK2, TRICKB, ZTNFR9, TRICK2A, TRICK2B), CD284 (Receptor semelhante a Toll 4, TLR4, Agrupamento de Diferenciação 284), CD288 (Receptor semelhante a Toll 8, TLR8, Agrupamento de Diferenciação 288), Fator Inibidor de Leucemia (LIF), TNFSF15 (Membro 15 da superfamília do fator de necrose tumoral, Inibidor de crescimento endotelial vascular, VEGI, TL1A), TDO2 (Triptofano 2,3-dioxigenase, TPH2, TRPO), IGF-1R (Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1), GD2 (Disialoganglioside 2), TMIGD2 (Proteína 2 contendo domínio de imunoglobulina e transmembrana), RGMB (Família de domínio RGM, membro B), VISTA (Supressor de imunoglobulina contendo domínio V da ativação de células T, B7-H5, Homólogo 5 de B7), BTNL2 (Proteína 2 semelhante à butirofilina), Btn (Família butirofilina), TIGIT (Imunorreceptor de células T com domínios Ig e ITIM, Vstm3, WUCAM), Siglecs (Lectinas semelhantes a Ig de ligação ao ácido siálico), isto é, SIGLEC-15, Neurofilina, VEGFR (Receptor do fator de crescimento endotelial vascular), família ILT (LIRs, família de transcritos semelhantes a imunoglobulinas, receptores leucocitários semelhantes a imunoglobulinas), famílias NKG (Famílias de grupos de assassinos naturais, receptores transmembrana de lectina tipo

C), MICA (Sequência A relacionada ao polipeptídeo MHC classe I), TGFβ (Transformando o fator de crescimento β), caminho STING (Estimulador da via do gene do interferon), Arginase (Arginina amidinase, canavanase, L-arginase, arginina transamidinase), EGFRvIII (Variante III do receptor do fator de crescimento epidérmico), e HHLA2 (B7-H7, B7y, Proteína de associação de HERV-H LTR 2, homólogo 7 de B7) , inibidores de PD-1 (Proteína de morte celular programada 1, PD-1, CD279, Agrupamento de Diferenciação 279), PD-L1 (B7-H1, homólogo 1 de B7, ligante de morte programada 1, CD274, Agrupamento de Diferenciação 274), PD-L2 (B7-DC, Ligante 2 de Morte celular programada 1, PDCD1LG2, CD273, Agrupamento de Diferenciação 273), CTLA-4 (Proteína 4 associada a linfócitos T citotóxicos, CD152, Agrupamento de Diferenciação 152), BTLA (Atenuador de linfócitos B e T, CD272, Agrupamento de Diferenciação 272), Indoleamina 2,3-dioxigenase (IDO, IDO1), TIM3 (HAVCR2, Receptor 2 celular do vírus da hepatite A, Mucina-3 de imunoglobulina de células T, KIM-3, Molécula 3 de lesão renal, TIMD-3, Domínio 3 da mucina de imunoglobulina de células T), Receptor de adenosina A2A (receptor ADO), CD39 (ectonucleosídeo trifosfato difosfo-hidrolase-1, Agrupamento de Diferenciação 39, ENTPD1), e CD73 (Ecto-5'-nucleotidase, 5'-nucleotidase, 5'-NT, Agrupamento de Diferenciação 73), CD27 (Agrupamento de Diferenciação 27), ICOS (CD278, Agrupamento de Diferenciação 278, Coestimulador de células T induzíveis), CD137 (4-1BB, Agrupamento de Diferenciação 137, membro 9 da superfamília do receptor do fator de necrose tumoral, TNFRSF9), OX40 (CD134, Agrupamento de Diferenciação 134), TNFSF25 (Membro da superfamília 25 do receptor do fator de necrose

tumoral), IL-10 (Interleucina-10, fator inibidor da síntese de citocinas humanas, CSIF) e Galectinas.

14. ANTICORPO MONOCLONAL OU FRAGMENTO DE LIGAÇÃO AO ANTÍGENO DO MESMO, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, caracterizado por aumentar a fagocitose de células tumorais humanas em combinação com um anticorpo monoclonal opsonizante que tem como alvo um antígeno em uma célula tumoral.

15. ANTICORPO MONOCLONAL OU FRAGMENTO DE LIGAÇÃO AO ANTÍGENO DO MESMO, de acordo com a reivindicação 14, caracterizado pelo anticorpo monoclonal opsonizante ser escolhido dentre rituximabe (anti-CD20), trastuzumabe (anti-HER2), alemtuzumabe (anti-CD52), cetuximabe (anti-EGFR), panitumumabe (anti-EGFR), ofatumumabe (anti-CD20), denosumabe (anti-RANKL), pertuzumabe (anti-HER2), panitumumabe (EGFR), pertuzumabe (HER2), elotuzumabe (SLAMF7), atezolizumabe (anti-PD-L1), avelumabe (anti-PD-L1), durvalumabe (anti-PD-L1), necitumumabe (anti-EGFR), daratumumabe (anti-CD38), obinutuzumabe (anti-CD20), blinatumomabe (anti-CD19/CD3), dinutuximabe (anti-GD2).

16. ANTICORPO MONOCLONAL OU FRAGMENTO DE LIGAÇÃO AO ANTÍGENO DO MESMO, de acordo com a reivindicação 14, caracterizado pelo anticorpo monoclonal opsonizante ter como alvo um antígeno em uma célula tumoral escolhida dentre CD20, EGFR e PD-L1.

17. ANTICORPO MONOCLONAL OU FRAGMENTO DE LIGAÇÃO AO ANTÍGENO DO MESMO, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, caracterizado por se destinar ao uso na fabricação de um medicamento para prevenir ou tratar um câncer suscetível.

18. MÉTODO PARA PREVENIR OU TRATAR UM CÂNCER SUSCETÍVEL EM UM SER HUMANO, caracterizado por compreender a administração de uma quantidade eficaz de um anticorpo monoclonal ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 9.

19. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 18, caracterizado pelo referido câncer ser selecionado dentre o grupo que consiste em uma leucemia, um linfoma, mieloma múltiplo, câncer de ovário, câncer de mama, câncer endometrial, câncer de cólon (câncer colorretal), câncer retal, câncer de bexiga, câncer urotelial, câncer de pulmão (câncer de pulmão de células não pequenas, adenocarcinoma do pulmão, carcinoma de células escamosas do pulmão), câncer brônquico, câncer ósseo, câncer de próstata, câncer pancreático, câncer gástrico, carcinoma hepatocelular, câncer de vesícula biliar, câncer de ducto biliar, câncer de esôfago, carcinoma de células renais, câncer de tireoide, carcinoma de células escamosas da cabeça e pescoço (câncer de cabeça e pescoço), câncer testicular, câncer da glândula endócrina, câncer da glândula adrenal, câncer da glândula pituitária, câncer da pele, câncer dos tecidos moles, câncer dos vasos sanguíneos, câncer cerebral, câncer dos nervos, câncer de olhos, câncer de meninges, câncer de orofaringe, câncer de hipofaringe, câncer de colo do útero e câncer de útero, glioblastoma, meduloblastoma, astrocitoma, glioma, meningioma, gastrinoma, neuroblastoma, melanoma, síndrome mielodisplásica e um sarcoma.

20. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 18, caracterizado pela dita leucemia ser selecionada dentre mastocitose sistêmica, leucemia linfocítica (linfoblástica)

aguda (LLA), LLA de células T, leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia linfocítica crônica (CLL), leucemia mieloide crônica (CML), doença/neoplasia mieloproliferativa, síndrome mielodisplástica, leucemia de células monocíticas e leucemia de células plasmáticas.

21. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 18, caracterizado pelo dito linfoma ser selecionado dentre linfoma histiocítico e linfoma de células T, linfomas de células B, incluindo linfoma de Hodgkin e linfoma não Hodgkin, como linfoma não Hodgkin de baixo grau/folicular (NHL), linfoma de células (FCC), linfoma de células do manto (MCL), linfoma difuso de grandes células (DLCL), NHL linfocítico pequeno (SL), NHL folicular/de grau intermediário, NHL difuso de grau intermediário, NHL imunoblástico de alto grau, NHL linfoblástico de alto grau, LNH de células pequenas não clivadas de alto grau, LNH de doença volumosa e Macroglobulinemia de Waldenstrom.

22. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 18, caracterizado pelo dito sarcoma ser selecionado dentre osteossarcoma, sarcoma de Ewing, leiomiossarcoma, sarcoma sinovial, sarcoma alveolar de partes moles, angiossarcoma, lipossarcoma, fibrossarcoma, rabdomiossarcoma e condrossarcoma.

23. MÉTODO PARA PREVENIR OU TRATAR UM CÂNCER SUSCETÍVEL EM UM SER HUMANO, caracterizado por compreender a administração de um primeiro anticorpo monoclonal ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 9, que se liga a SIRP α e evita a ligação de SIRP α com CD47, e um segundo anticorpo que se liga seletivamente ao CD47.

24. MÉTODO PARA PREVENIR OU TRATAR UM CÂNCER SUSCETÍVEL EM UM SER HUMANO, caracterizado por compreender a administração de um primeiro anticorpo monoclonal ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 9, que se liga a SIRP α e evita a ligação de SIRP α com CD47 e um segundo anticorpo que se liga seletivamente ao EGFR.

25. MÉTODO PARA PREVENIR OU TRATAR UM CÂNCER SUSCETÍVEL EM UM SER HUMANO, caracterizado por compreender a administração de um primeiro anticorpo monoclonal ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 9, que se liga a SIRP α e evita a ligação de SIRP α com CD47, e um segundo anticorpo que se liga seletivamente ao PD-1.

26. MÉTODO PARA PREVENIR OU TRATAR UM CÂNCER SUSCETÍVEL EM UM SER HUMANO, caracterizado por compreender a administração de um primeiro anticorpo monoclonal ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 9, que se liga a SIRP α e evita a ligação de SIRP α com CD47, e um segundo anticorpo que se liga seletivamente ao PD-L1.

27. MÉTODO PARA PREVENIR OU TRATAR UM CÂNCER SUSCETÍVEL EM UM SER HUMANO, caracterizado por compreender a administração de um primeiro anticorpo monoclonal ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 9, que se liga a SIRP α e evita a ligação de SIRP α com CD47, e um segundo anticorpo que se liga seletivamente ao CTLA-4.

28. MÉTODO DE ENSAIO DE EXPRESSÃO DE SIRPA EM CÉLULAS TUMORAIS E/OU IMUNES, caracterizado por usar um

anticorpo monoclonal ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 5, que se liga especificamente a um epítopo dentro da sequência de SEQ ID NO:121 e/ou SEQ ID NO:122.

29. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 28, caracterizado por compreender obter uma amostra do paciente, colocar a amostra do paciente em contato com um anticorpo monoclonal ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que se liga especificamente a um epítopo dentro da sequência de SEQ ID NO:121 e/ou SEQ ID NO:122, e ensaio para ligação do anticorpo à amostra do paciente, em que a ligação do anticorpo à amostra do paciente é diagnóstico da expressão de SIRP α em uma amostra do paciente.

30. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 28, caracterizado pelo tumor ser um tumor de câncer ou um tumor de câncer metastático.

31. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 28, caracterizado pelo ensaio para ligação do anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo à amostra do paciente utilizar marcação imuno-histoquímica de uma amostra de tecido.

32. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 28, caracterizado pelo ensaio para ligação do anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo à amostra do paciente utilizar um ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA).

33. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 28, caracterizado pelo ensaio para ligação do anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo à amostra do paciente utilizar citometria de fluxo.

34. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 28, caracterizado pela amostra do paciente compreender células

tumorais e o ensaio compreende o ensaio para a ligação do anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo a células tumorais na amostra do paciente.

35. COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, caracterizada por compreender um anticorpo monoclonal ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 9, e um carreador, diluente ou excipiente farmacêuticamente ou fisiologicamente aceitável.

FIG. 1A

SIRP1

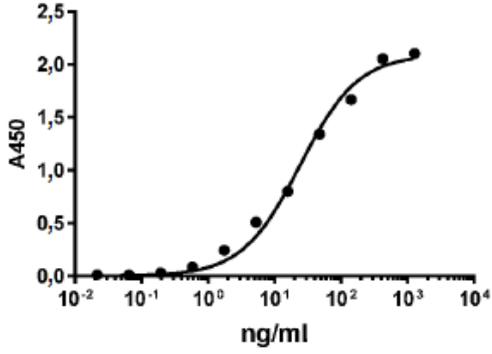


FIG. 1B

SIRP2

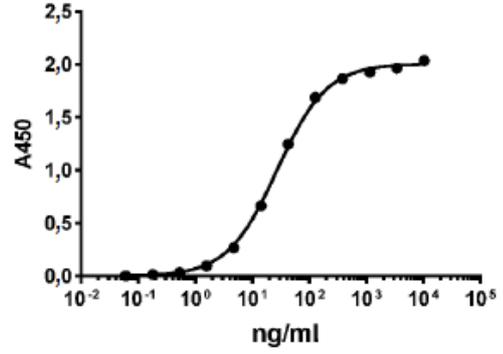


FIG. 1C

SIRP3

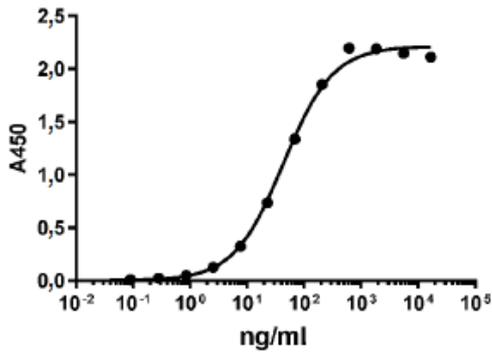


FIG. 1D

SIRP4

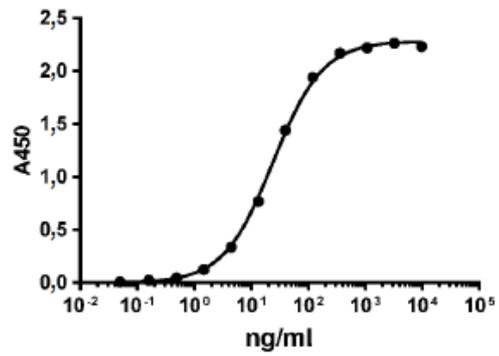


FIG. 1E

SIRP7

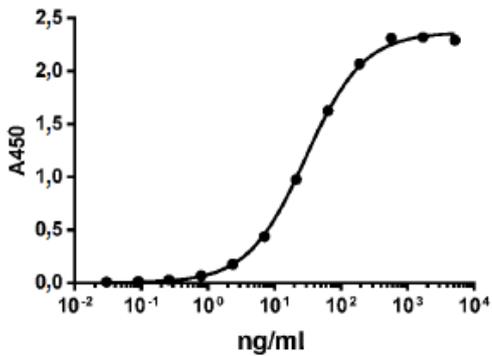


FIG. 1F

SIRP5

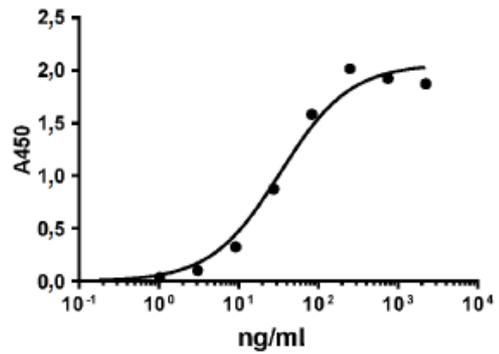


FIG. 1G

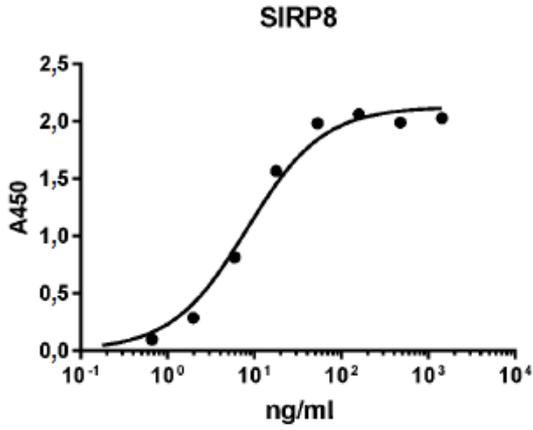


FIG. 1H

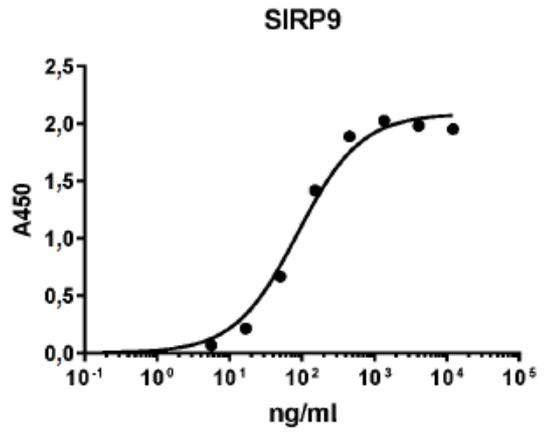


FIG. 1I

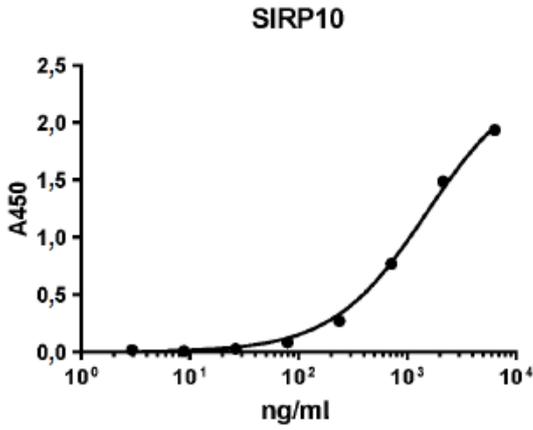


FIG. 1J

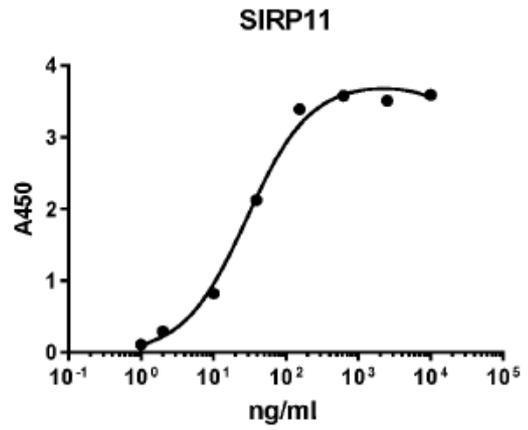


FIG. 1K

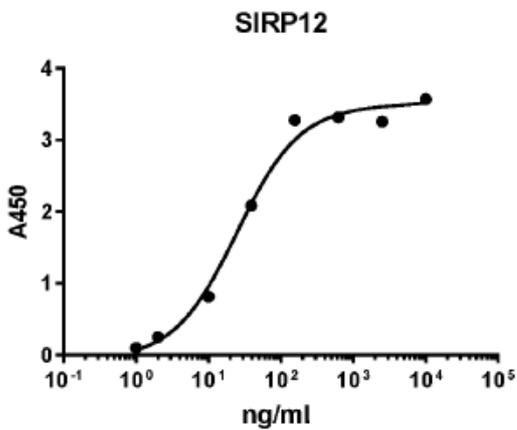


FIG. 1L

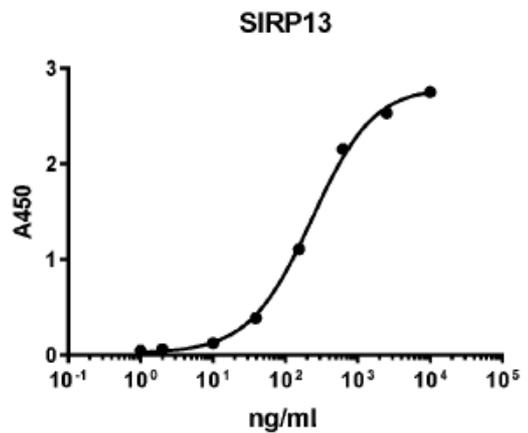


FIG. 1M

SIRP14

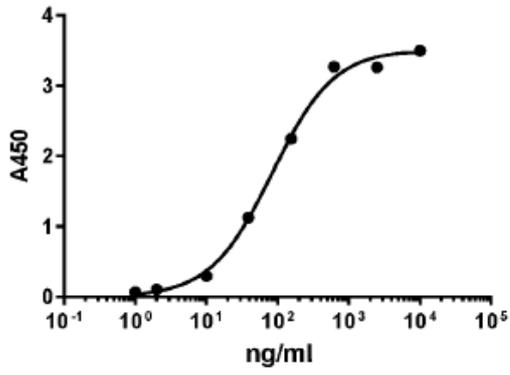


FIG. 1N

SIRP15

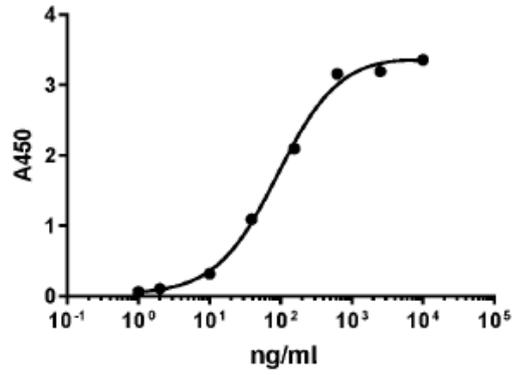


FIG. 1O

SIRP16

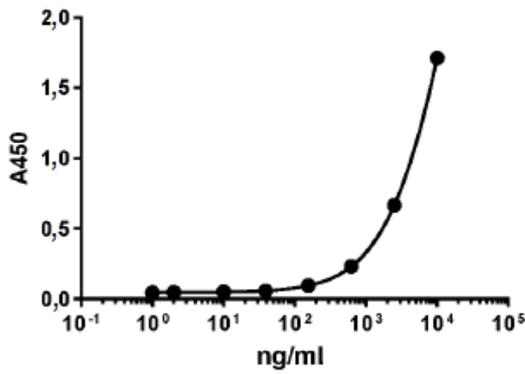


FIG. 1P

SIRP17

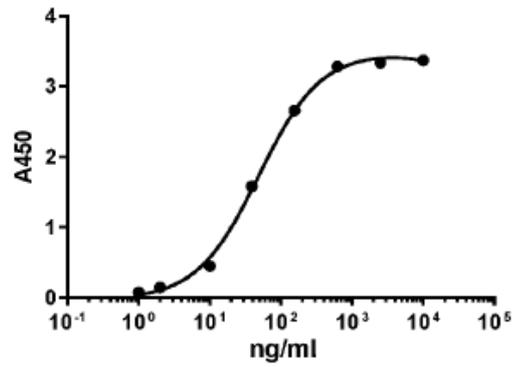


FIG. 1Q

SIRP18

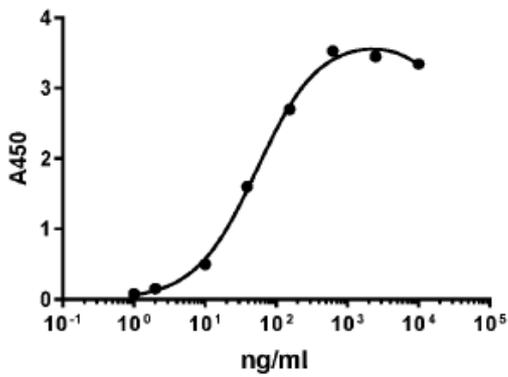


FIG. 1R

SIRP19

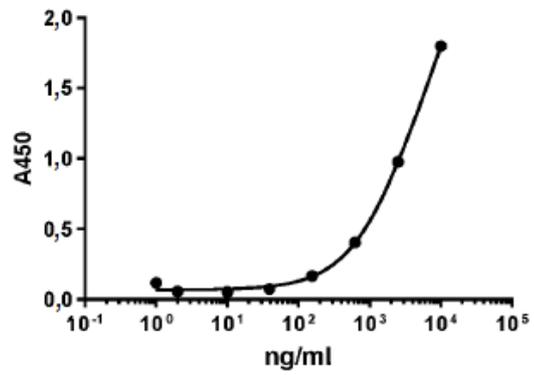


FIG. 1S

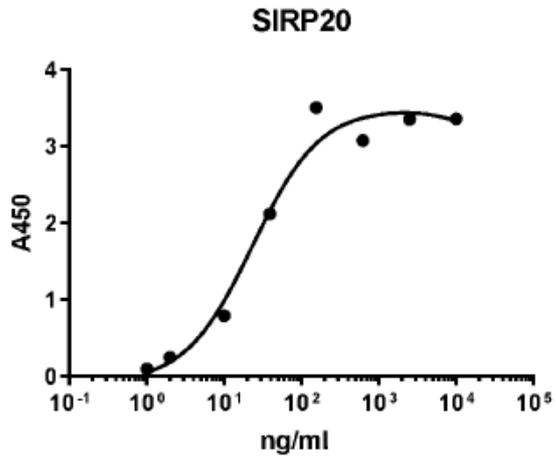


FIG. 1T

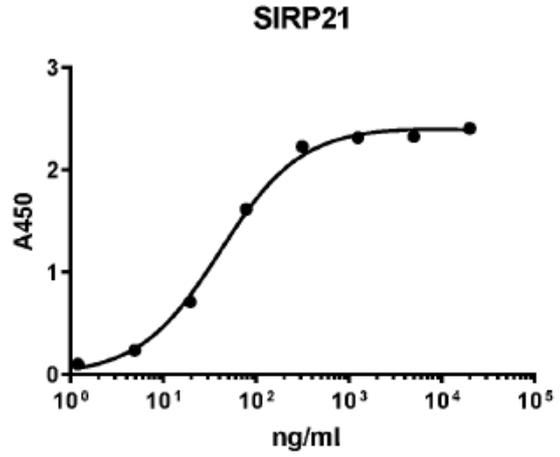


FIG. 1U

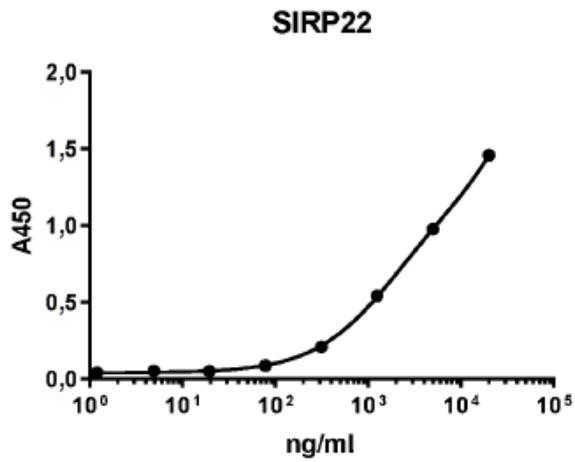


FIG. 1V

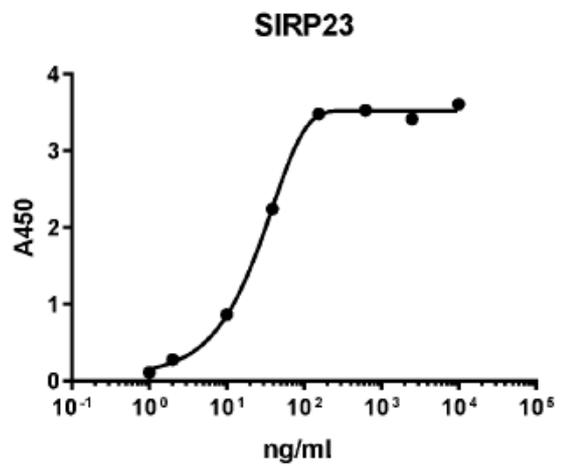


FIG. 2

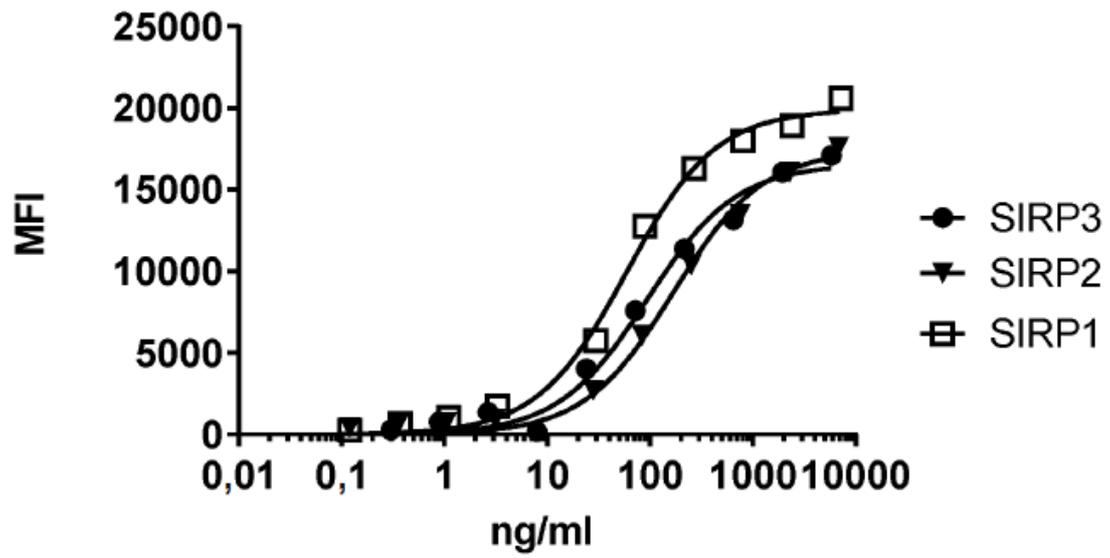


FIG. 3A

SIRP1

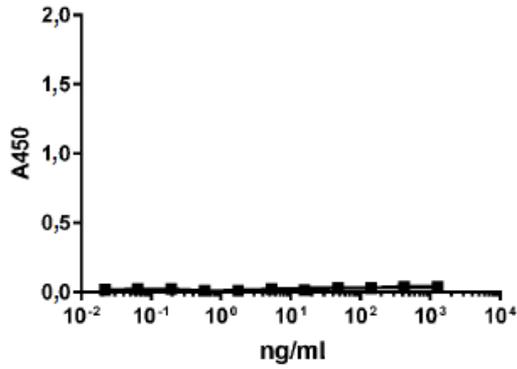


FIG. 3B

SIRP2

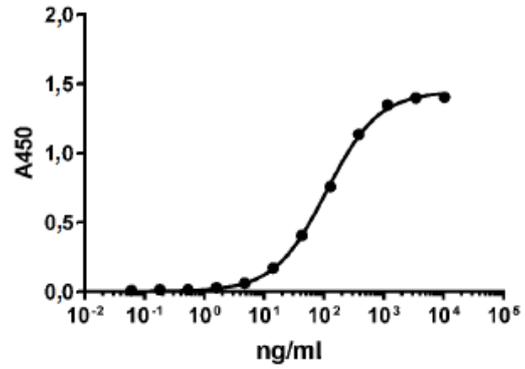


FIG. 3C

SIRP3

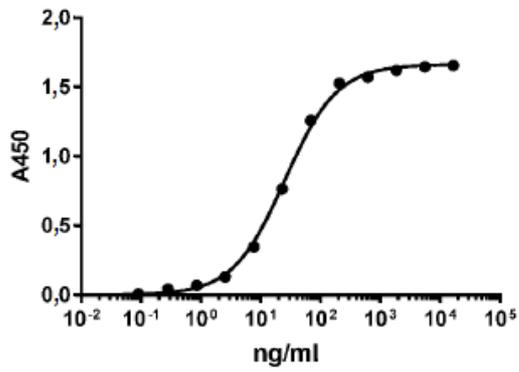


FIG. 3D

SIRP4

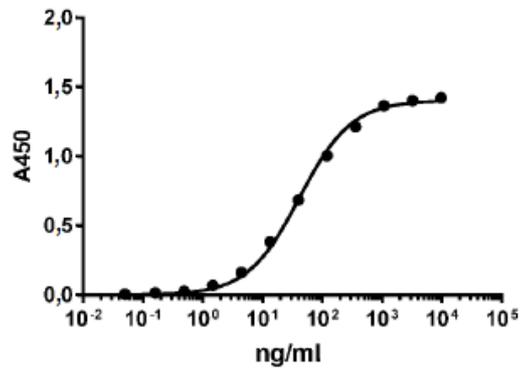


FIG. 3E

SIRP7

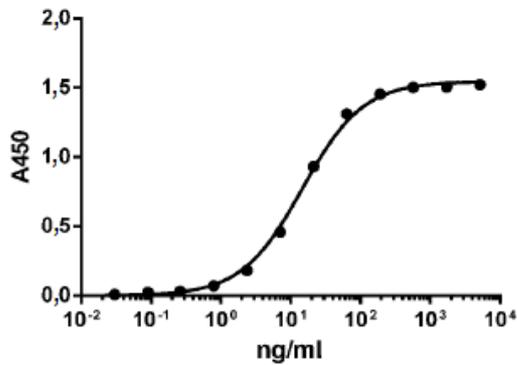


FIG. 3F

SIRP5

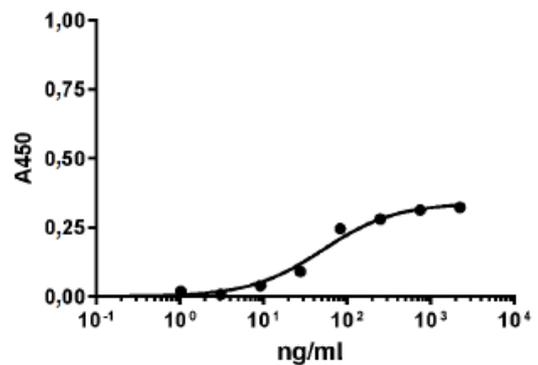


FIG. 3G
SIRP8

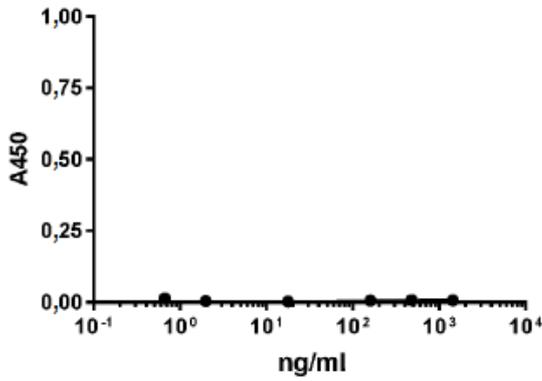


FIG. 3H
SIRP9

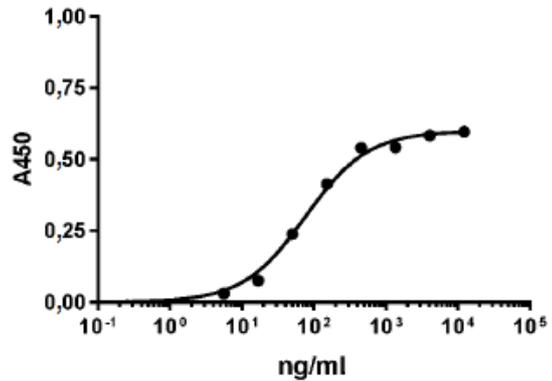


FIG. 3I
SIRP10

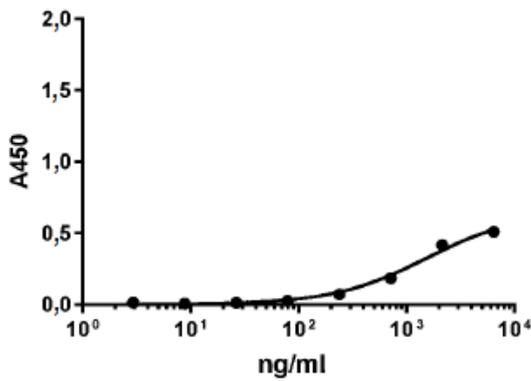


FIG. 3J
SIRP11

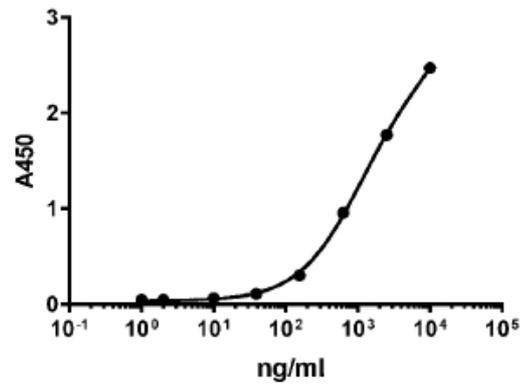


FIG. 3K
SIRP12

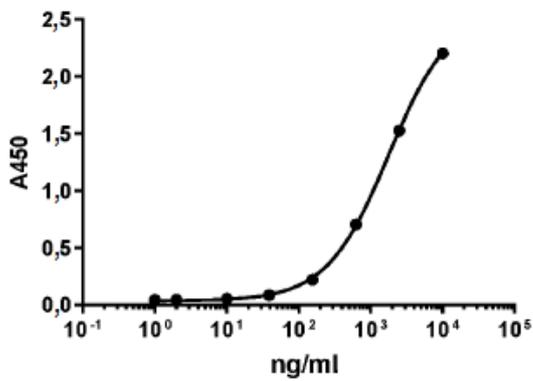


FIG. 3L
SIRP13

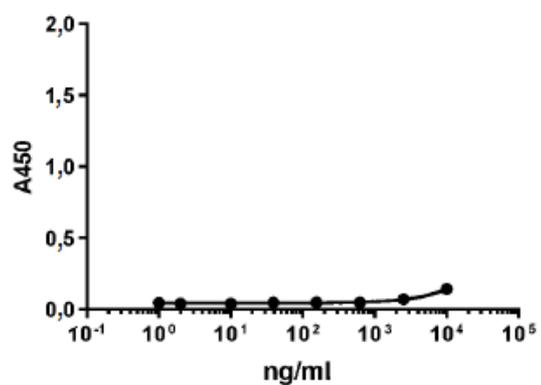


FIG. 3M

SIRP14

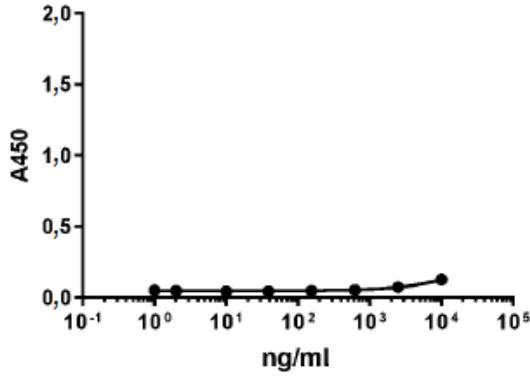


FIG. 3N

SIRP15

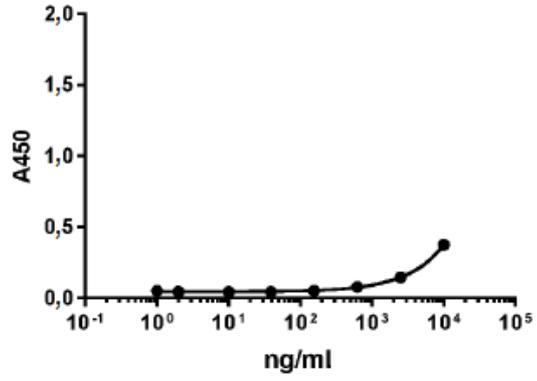


FIG. 3O

SIRP16

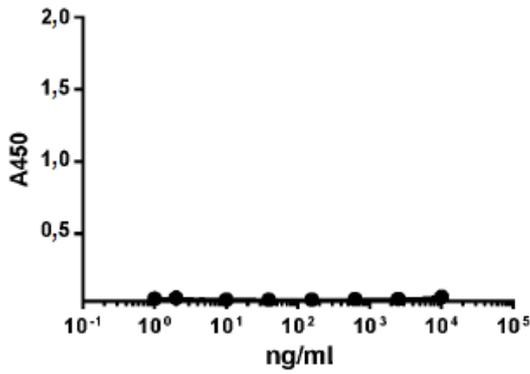


FIG. 3P

SIRP17

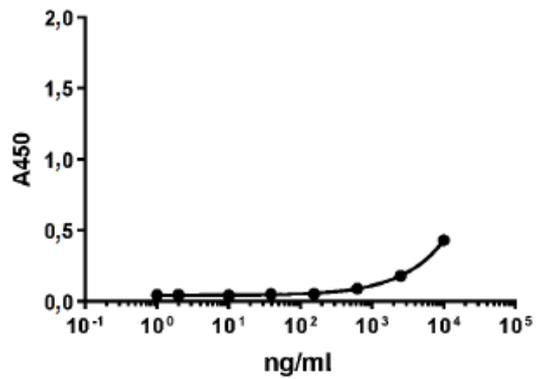


FIG. 3Q

SIRP18

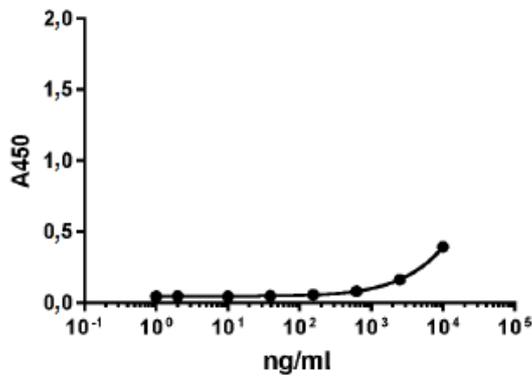


FIG. 3R

SIRP19

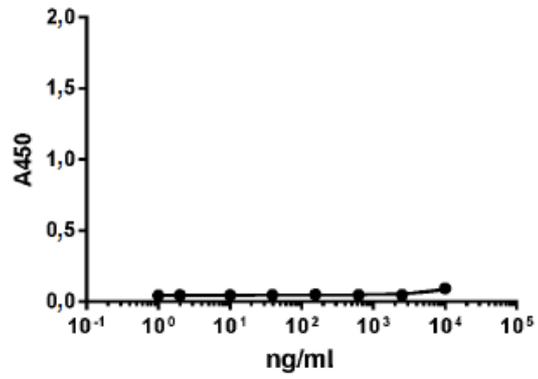


FIG. 3S

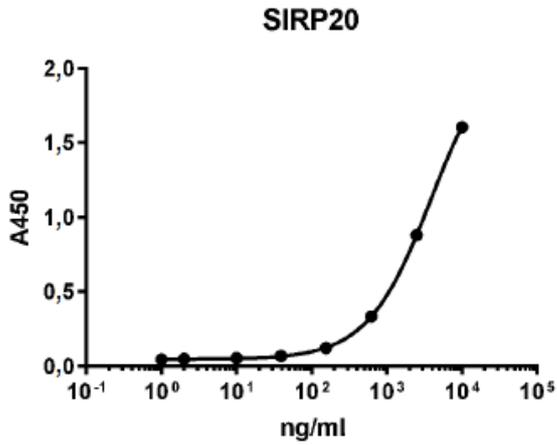


FIG. 3T

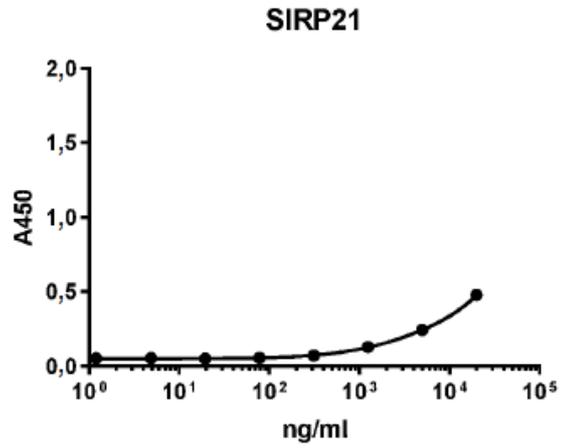


FIG. 3U

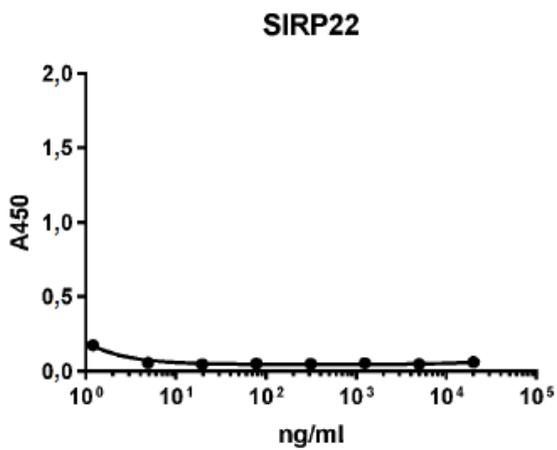


FIG. 3V

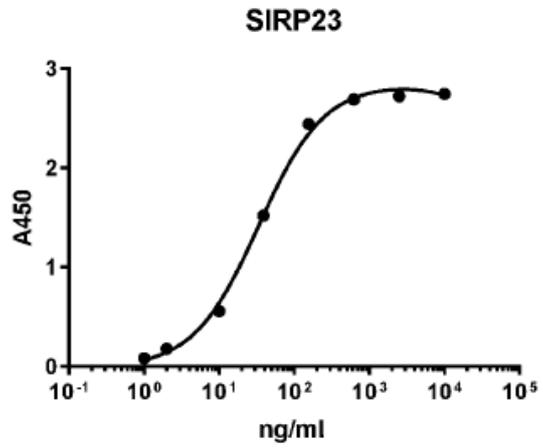


FIG. 4A

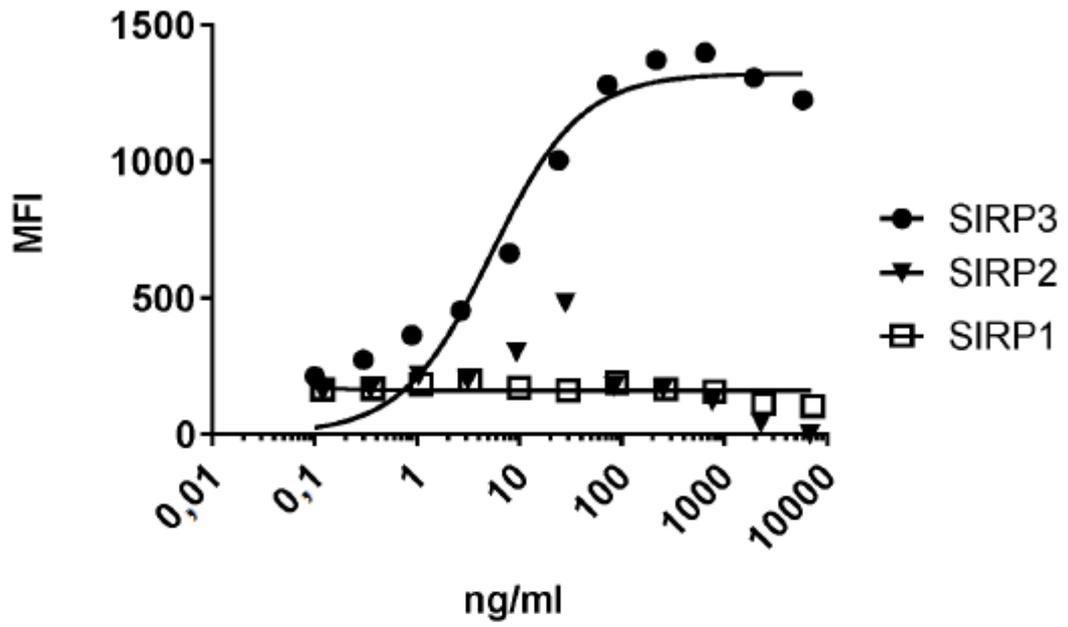


FIG. 4B

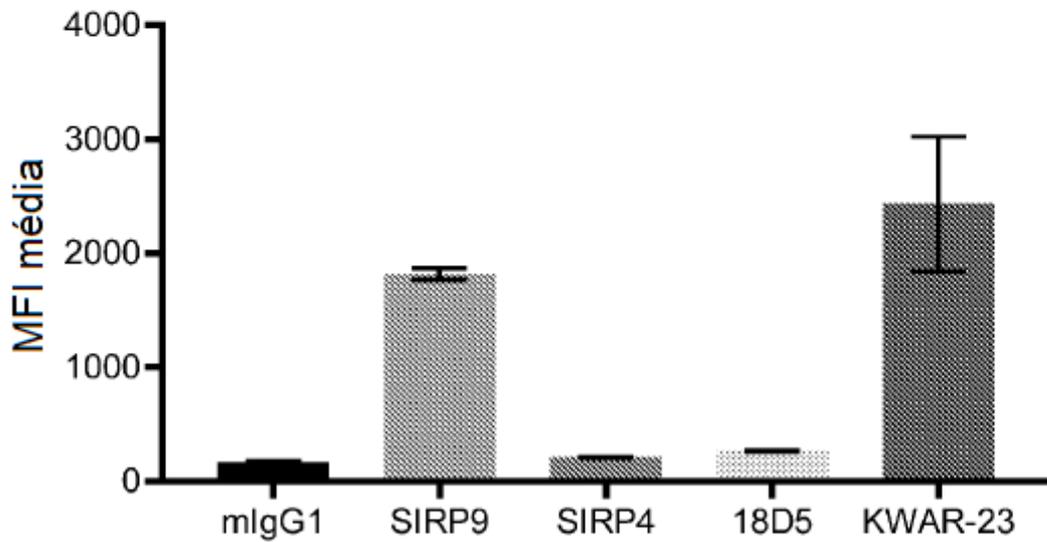


FIG. 5A

SIRP1

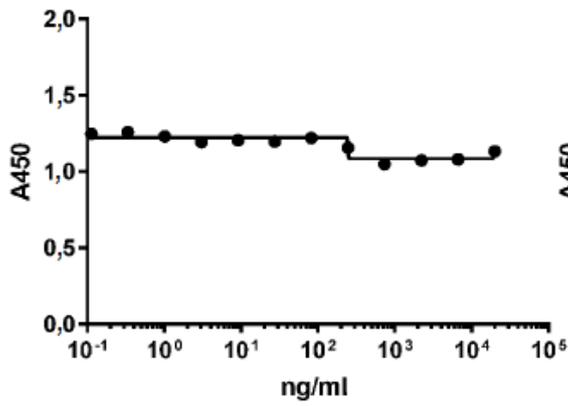


FIG. 5B

SIRP2

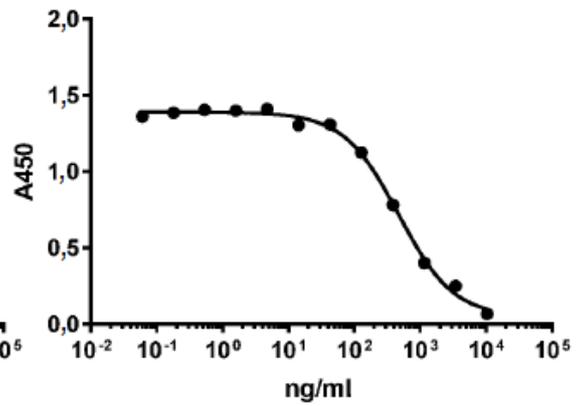


FIG. 5C

SIRP3

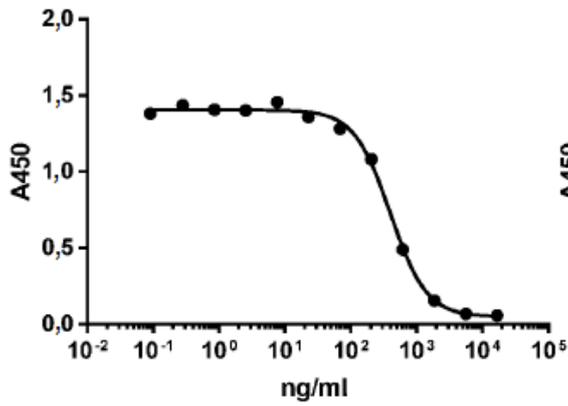


FIG. 5D

SIRP4

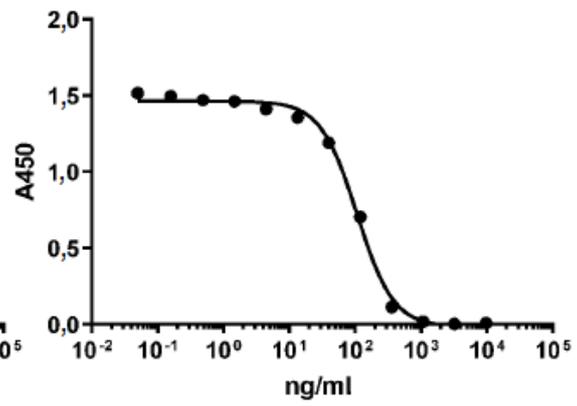


FIG. 5E

SIRP7

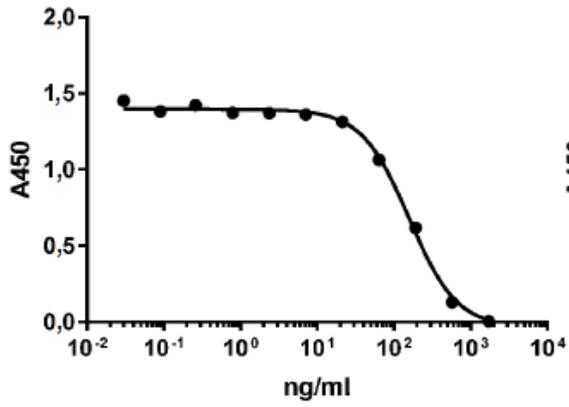


FIG. 5F

SIRP8

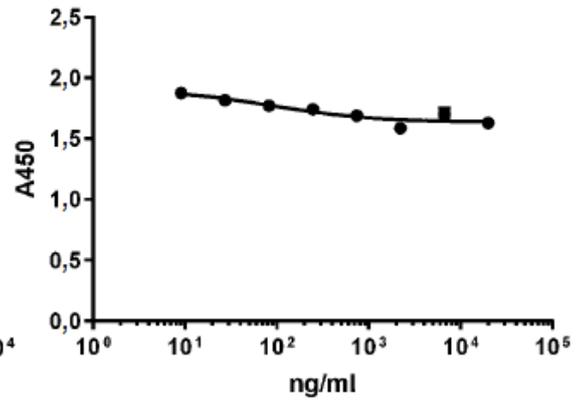


FIG. 5G

SIRP10

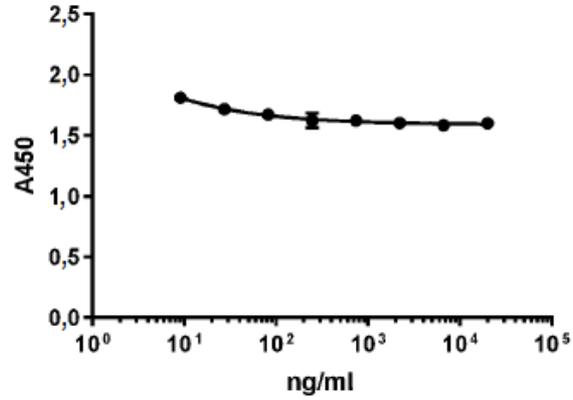


FIG. 6A

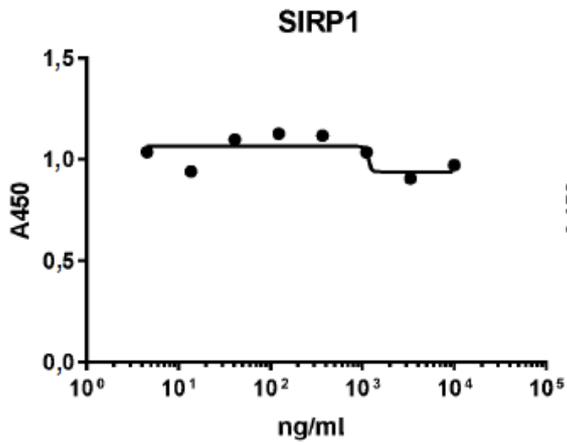


FIG. 6B

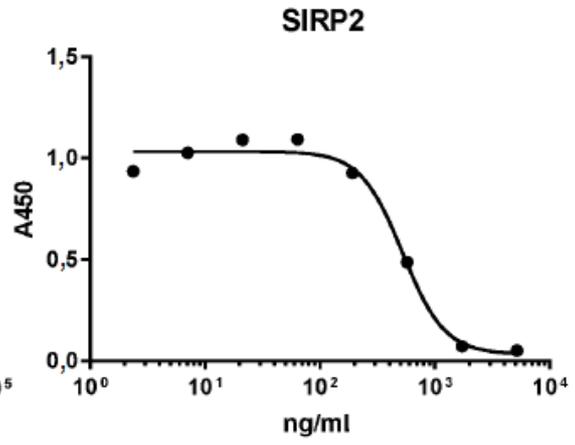


FIG. 6C

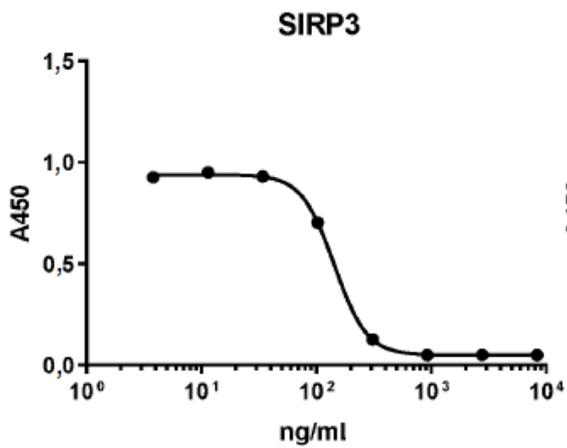


FIG. 6D

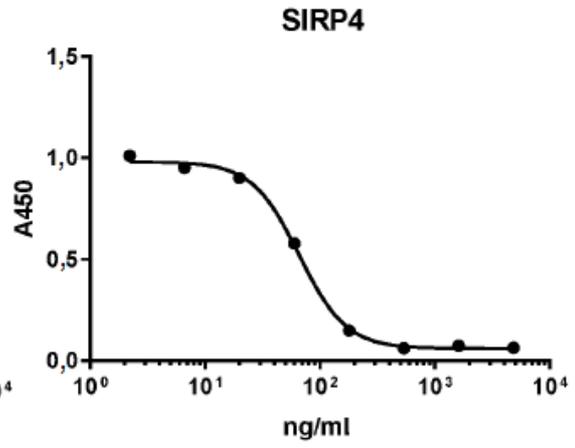


FIG. 6E

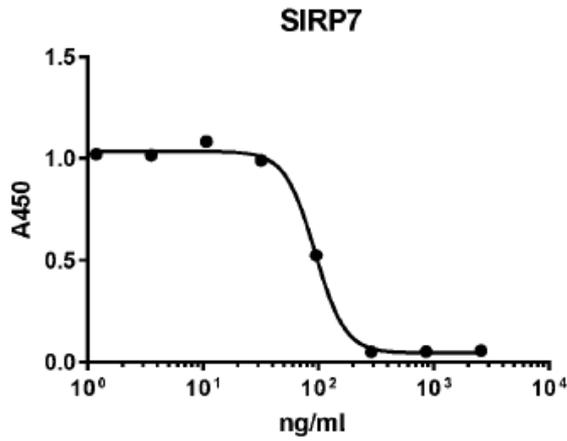


FIG. 6F

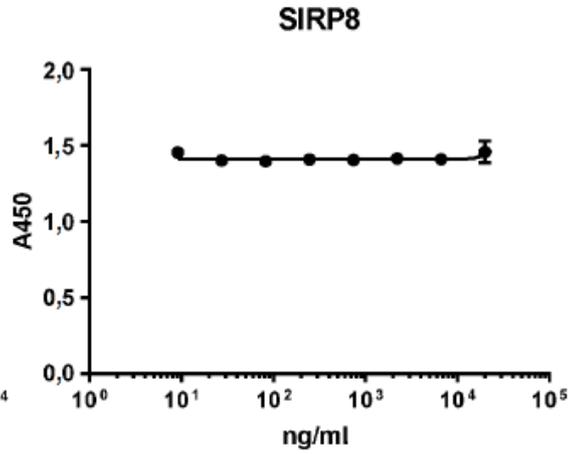


FIG. 6G

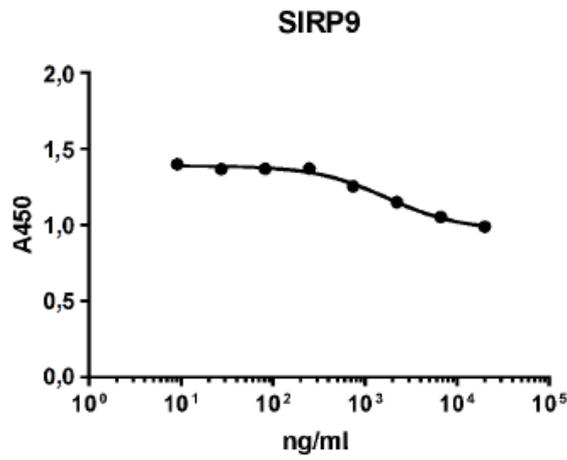
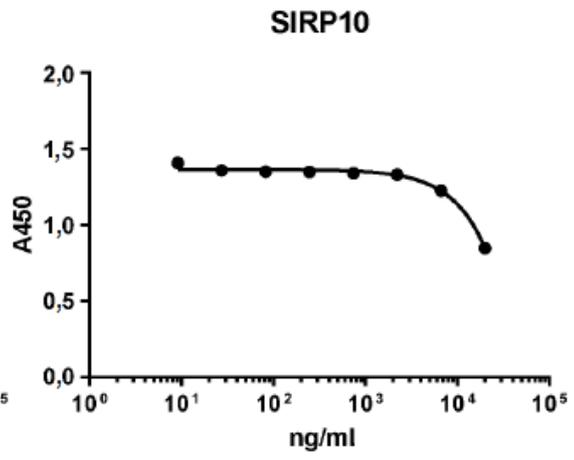


FIG. 6H



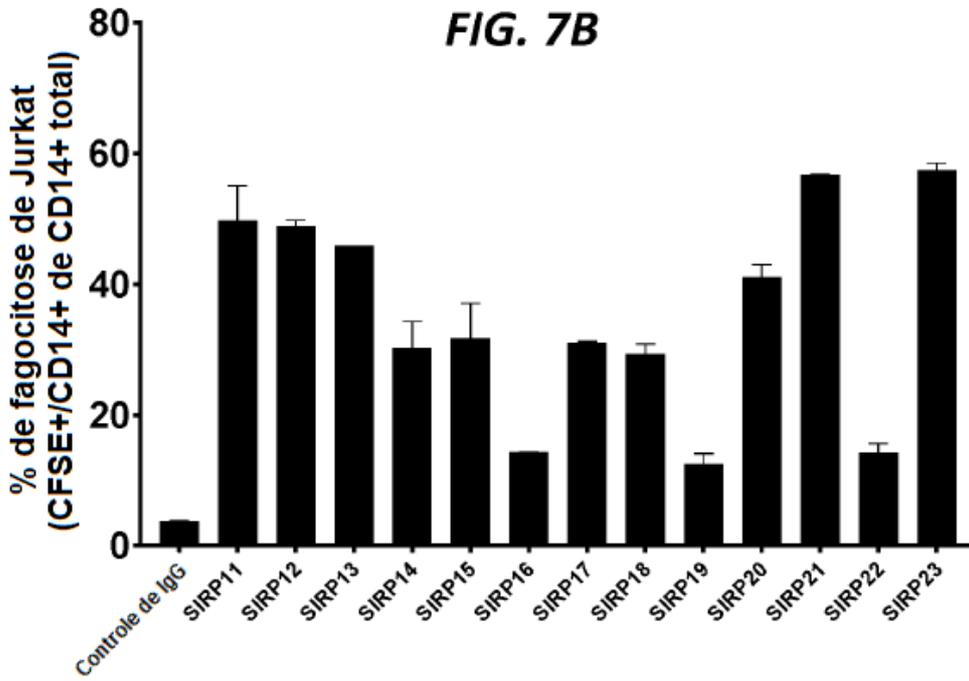
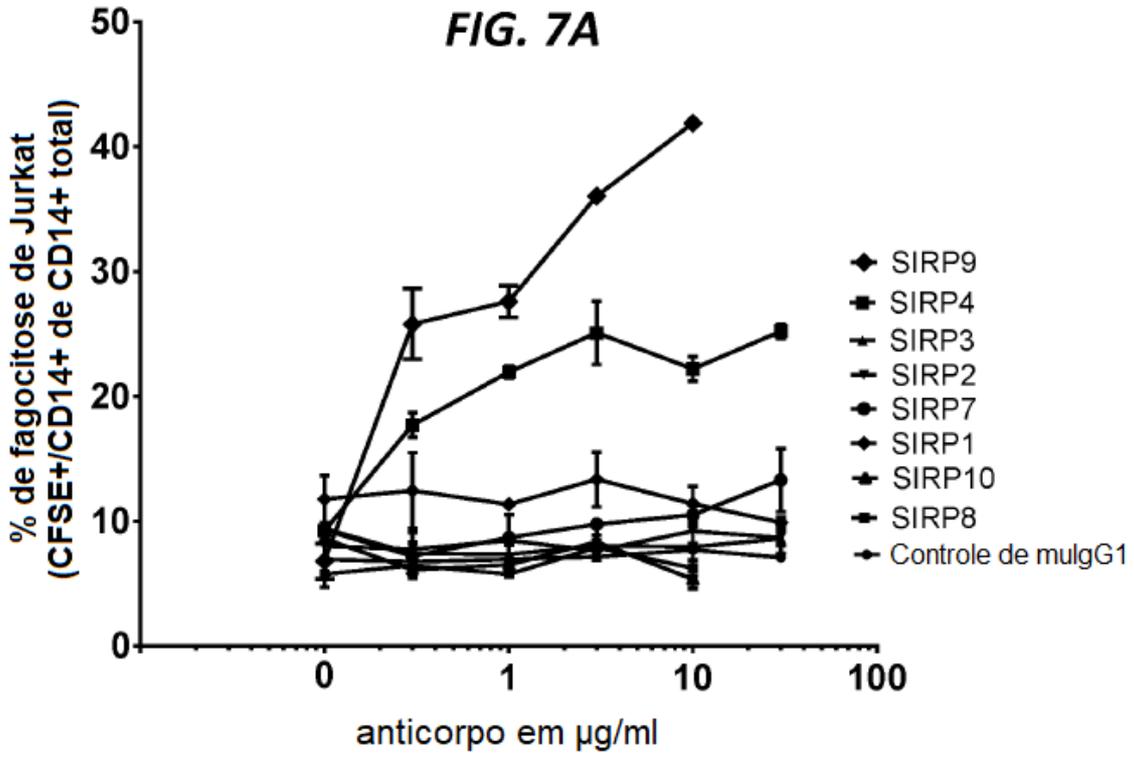


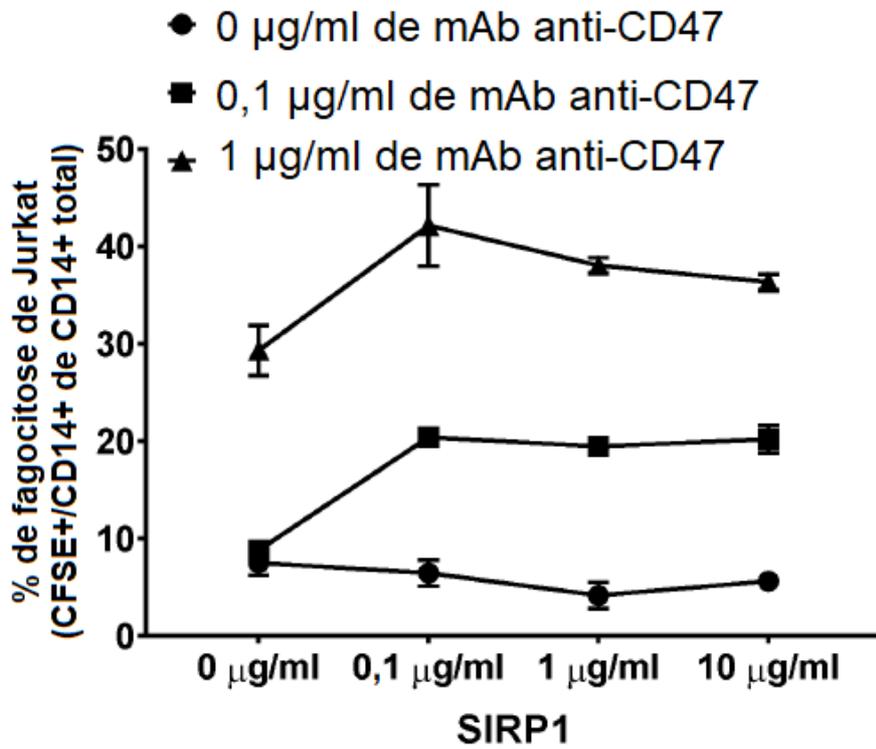
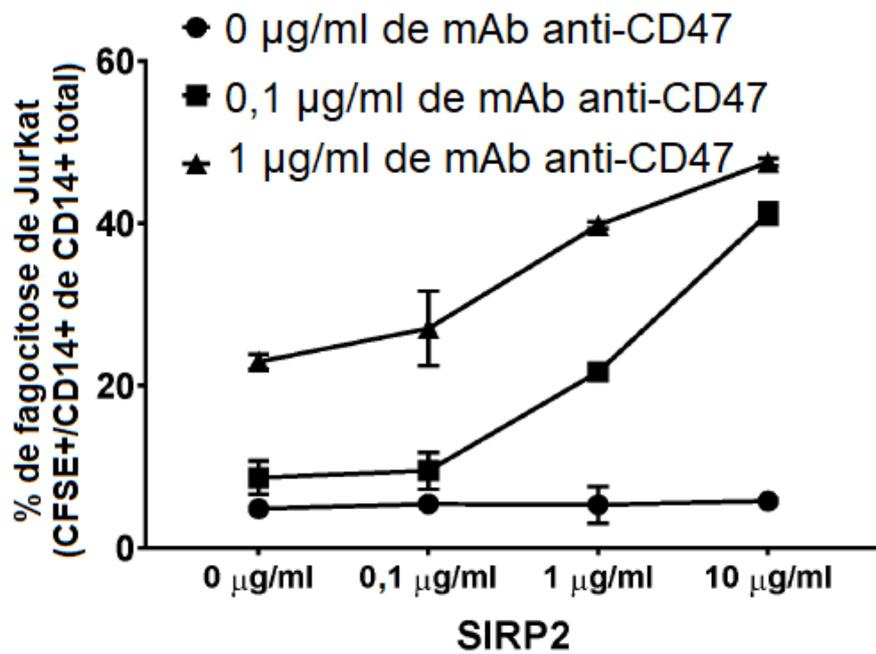
FIG. 8A**FIG. 8B**

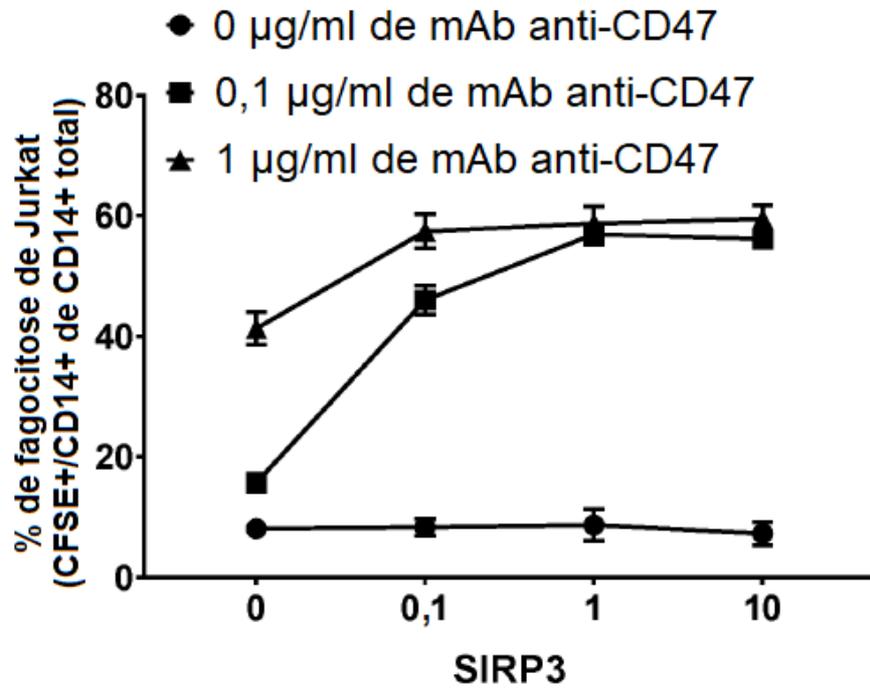
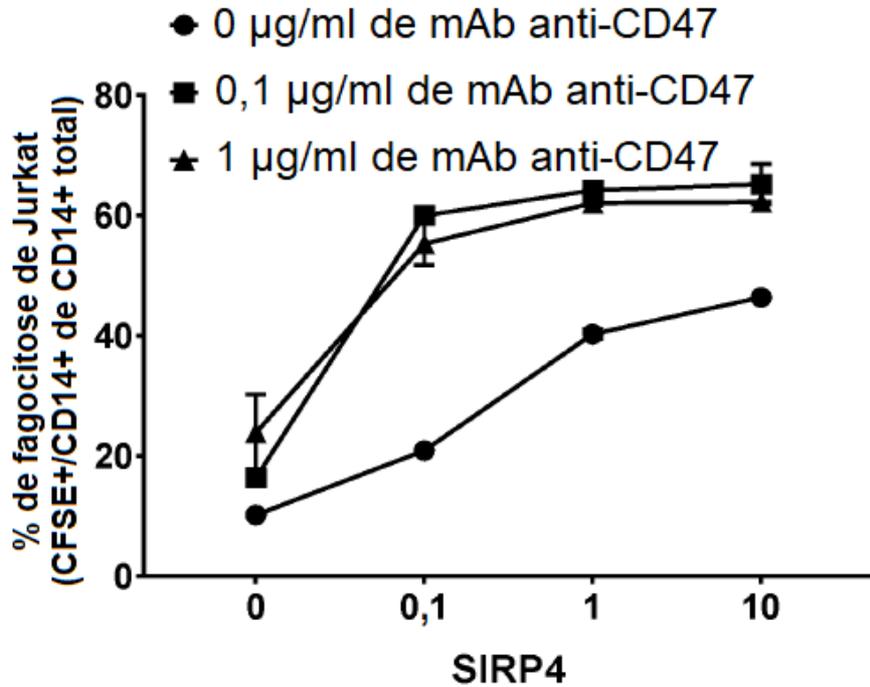
FIG. 8C**FIG. 8D**

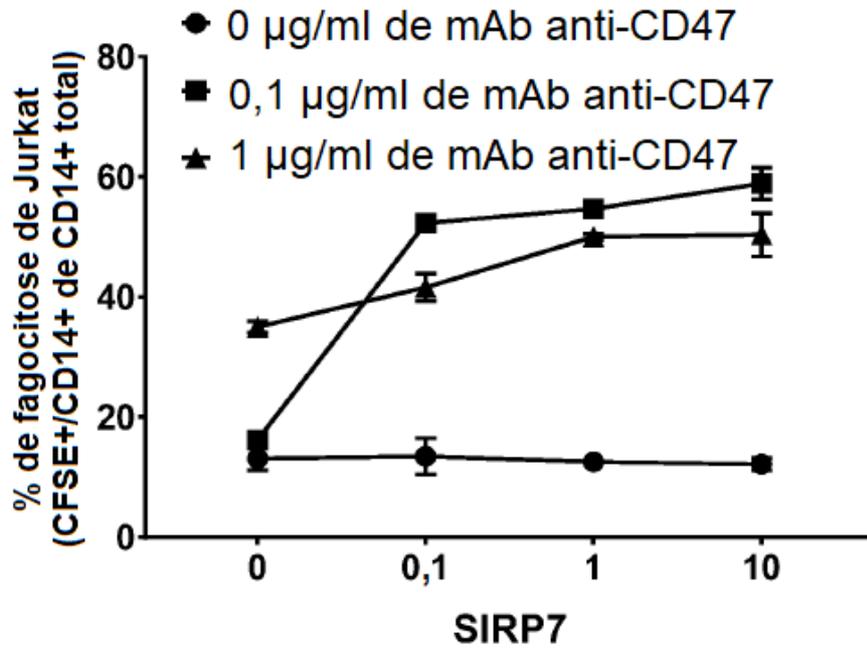
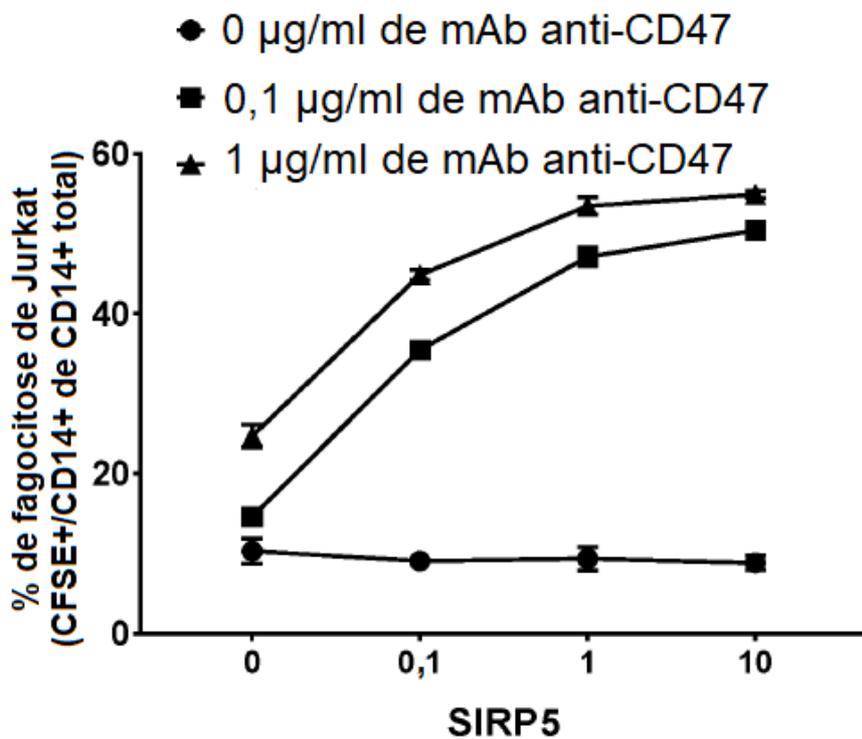
FIG. 8E**FIG. 8F**

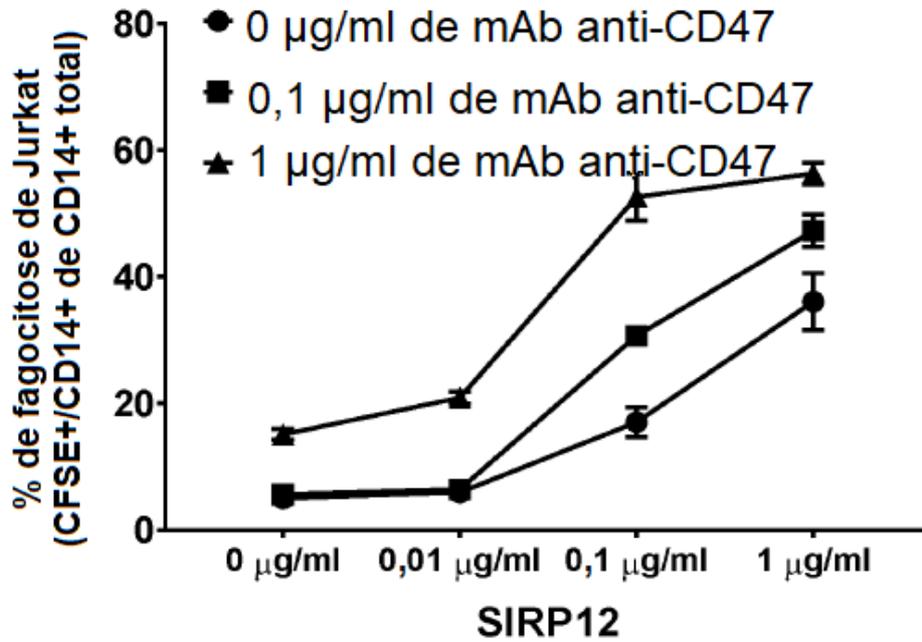
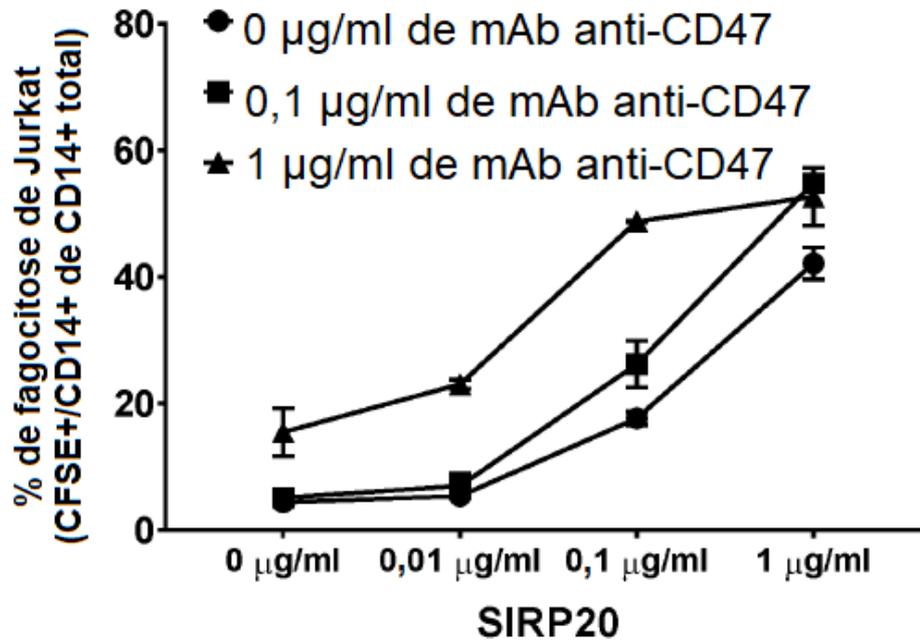
FIG. 8G**FIG. 8H**

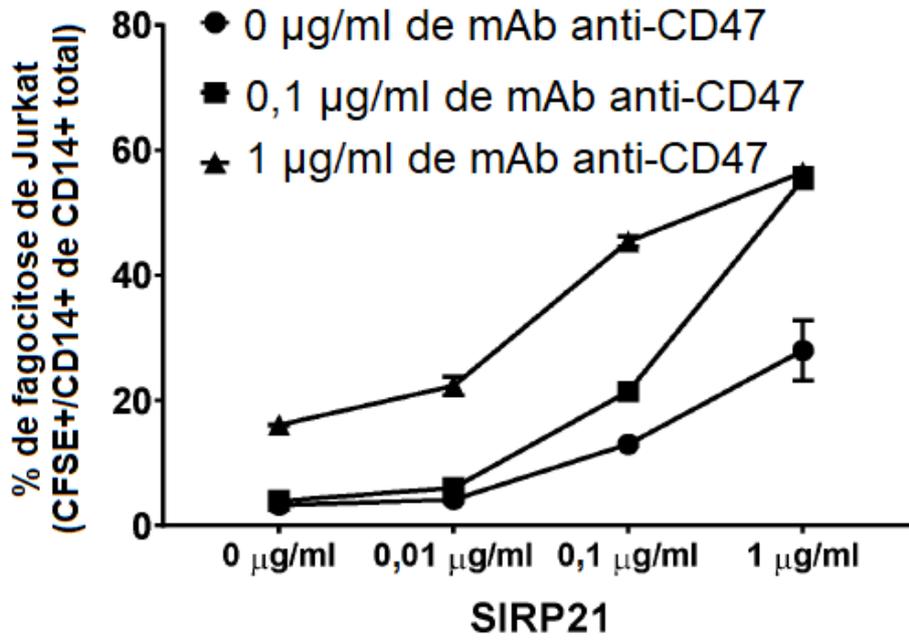
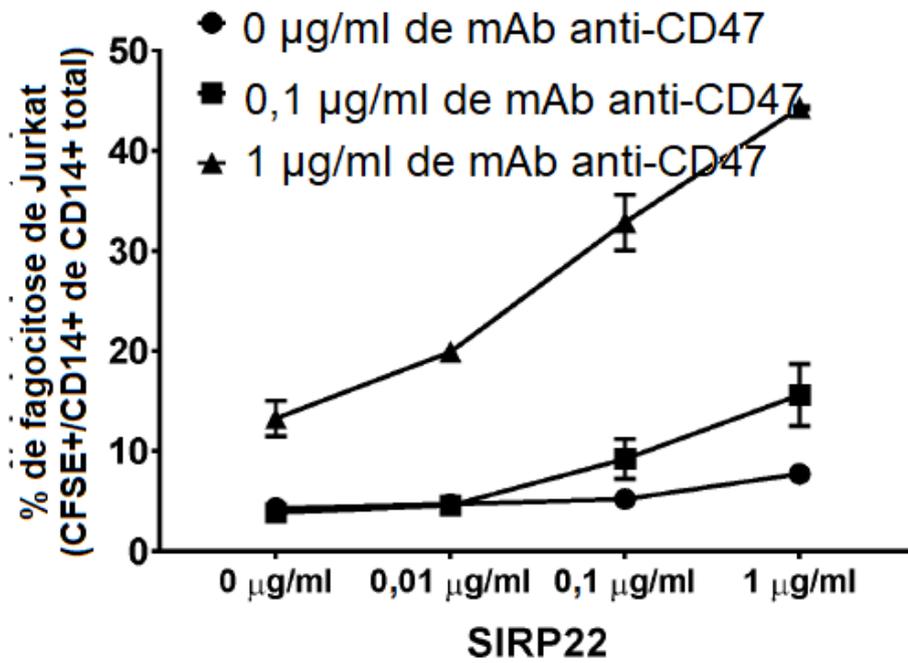
FIG. 8I**FIG. 8J**

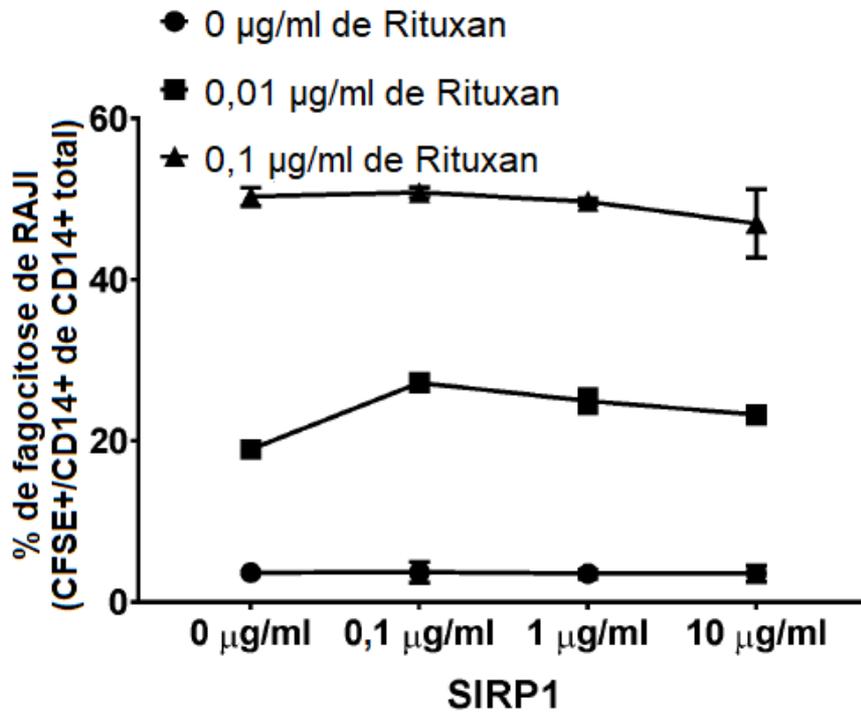
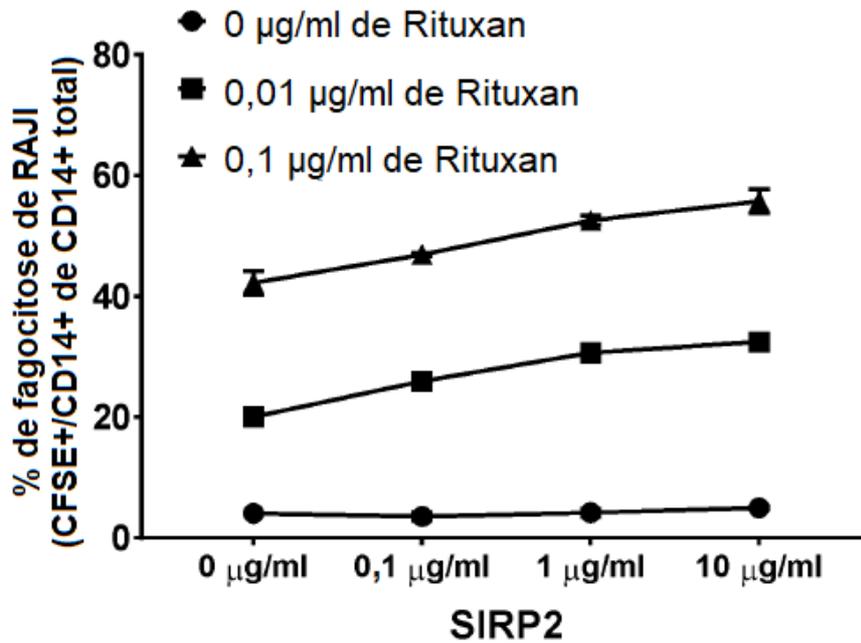
FIG. 9A**FIG. 9B**

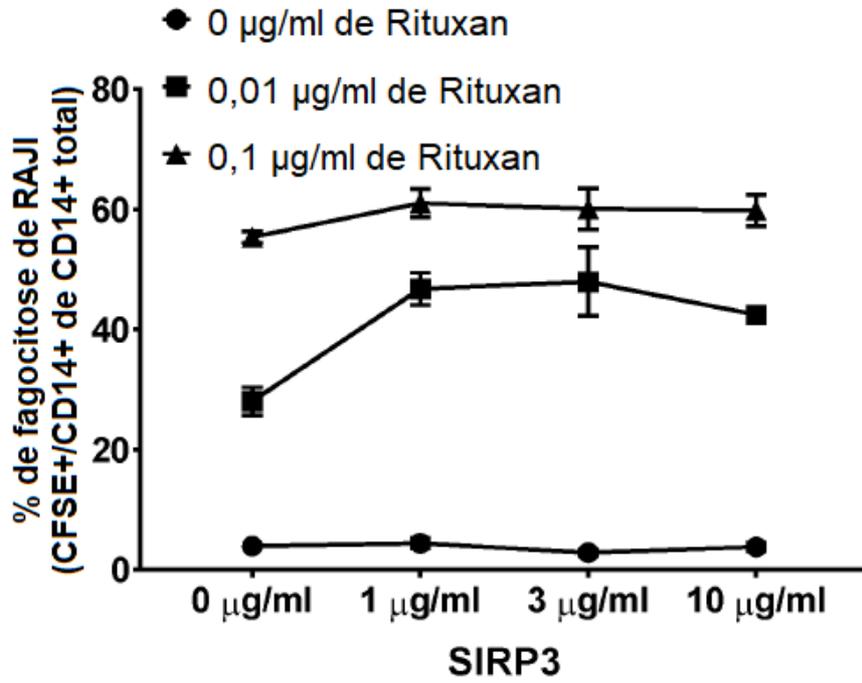
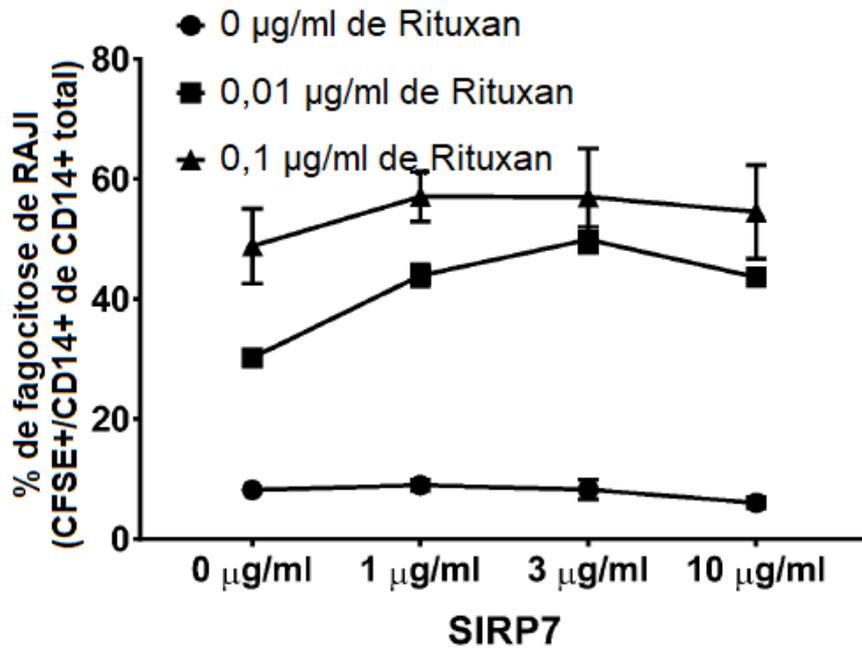
FIG. 9C**FIG. 9D**

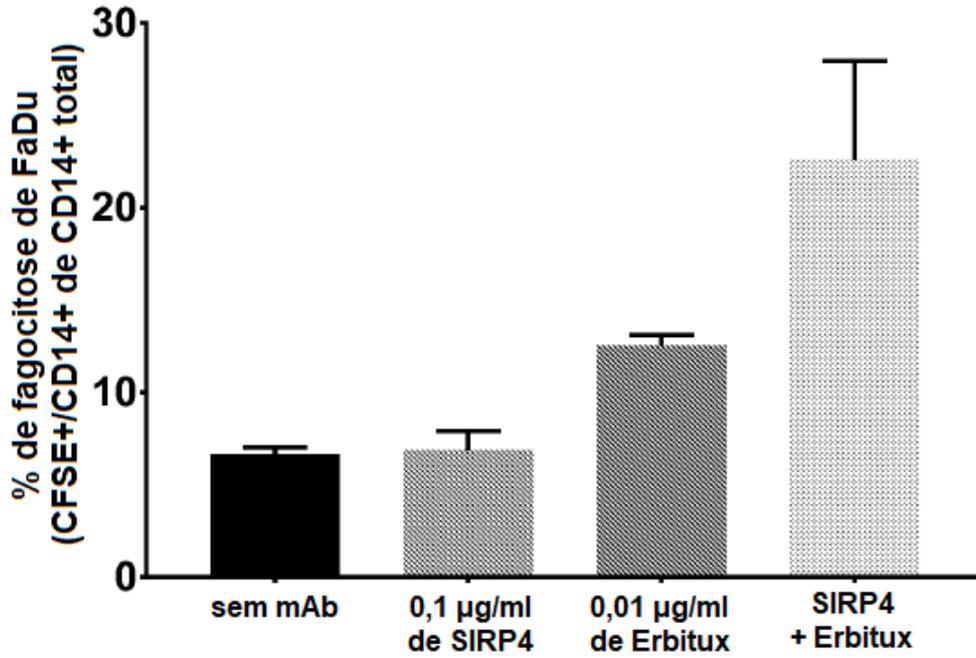
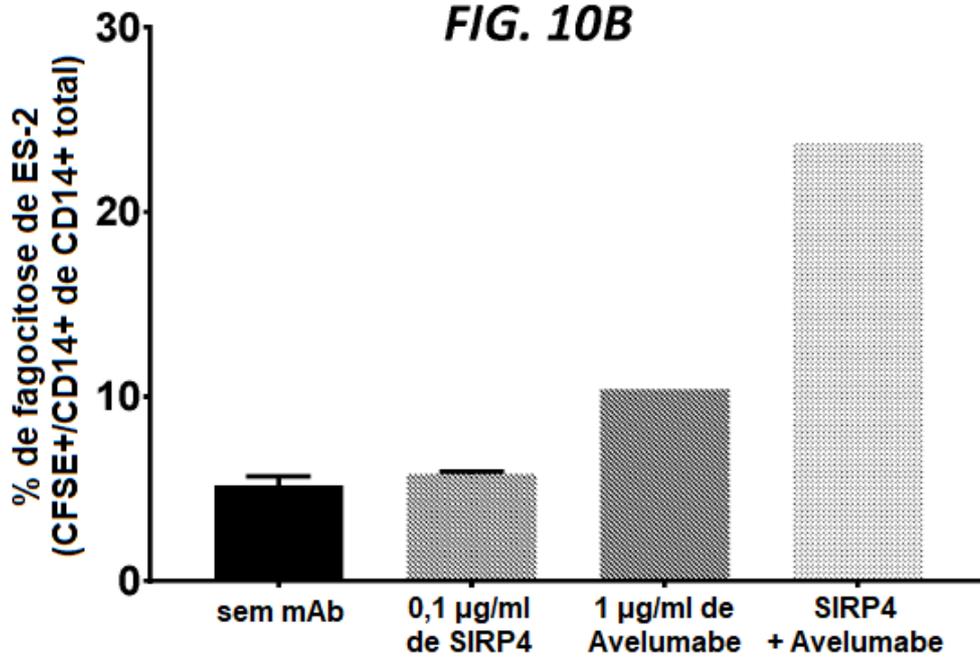
FIG. 10A**FIG. 10B**

FIG. 11

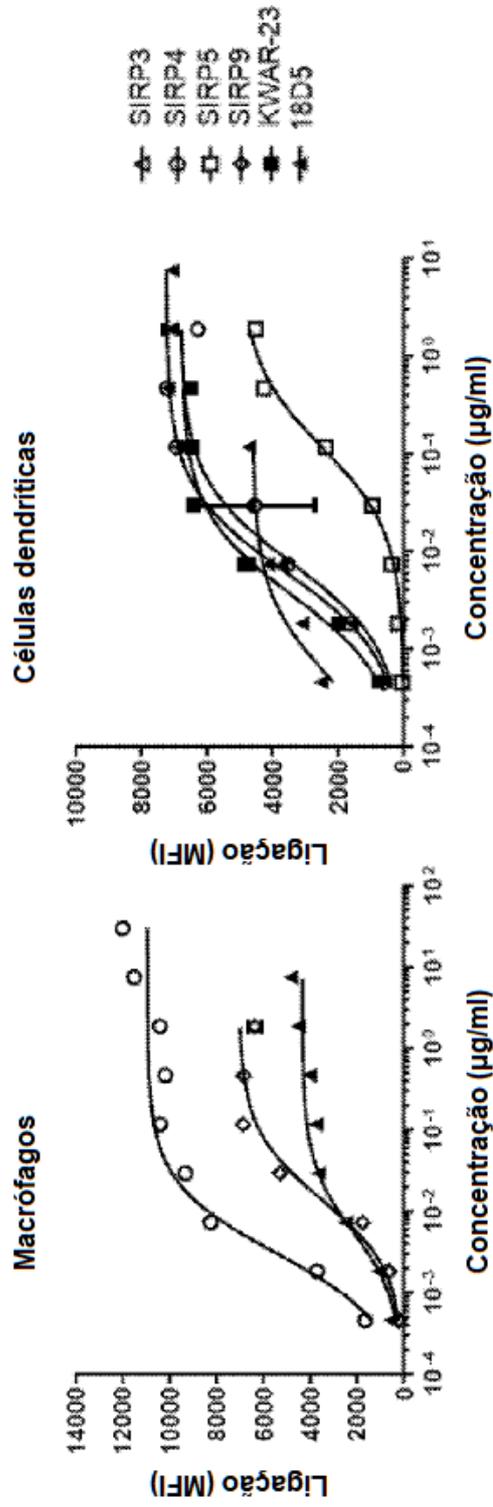


FIG. 12C

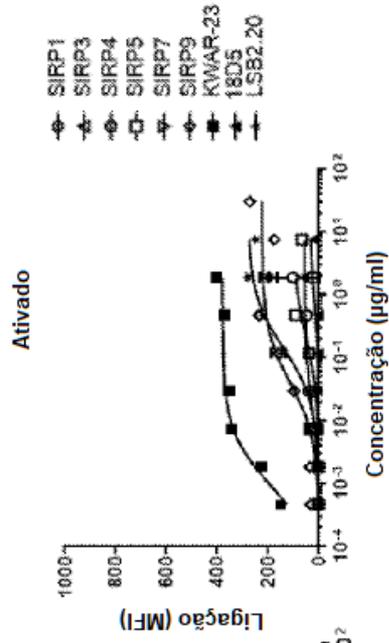


FIG. 12B

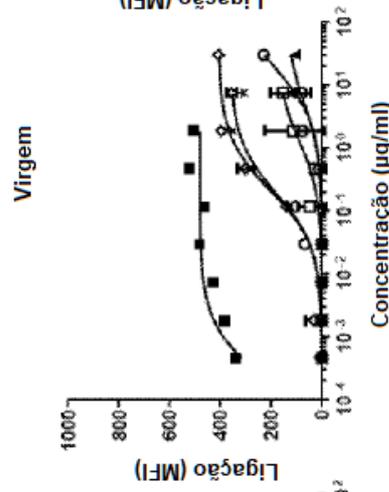


FIG. 12A

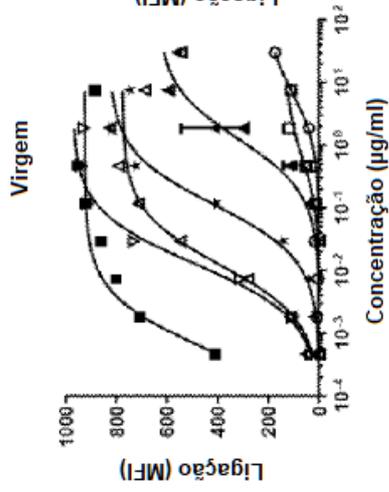


FIG. 13

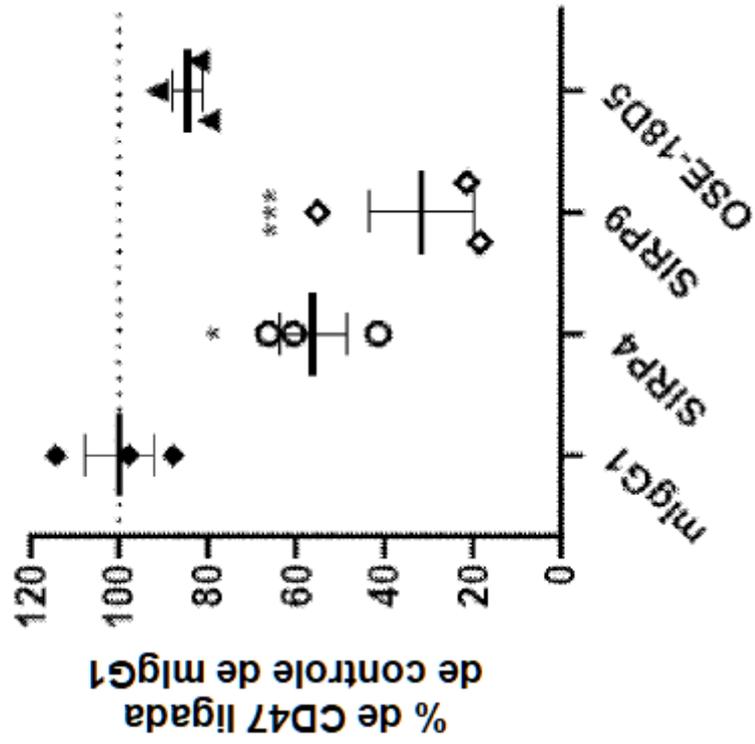


FIG. 14B

Proliferação de CD3 normalizada em relação ao controle de mlgG1

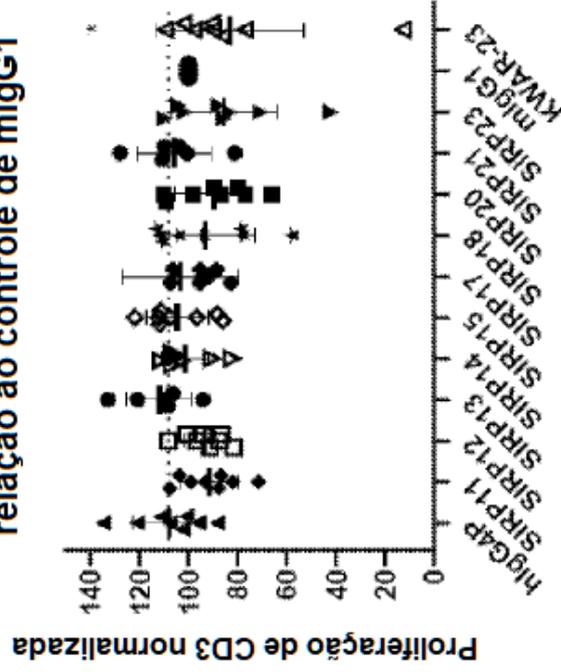


FIG. 14A

% de CD3 proliferada em comparação ao controle de mlgG1

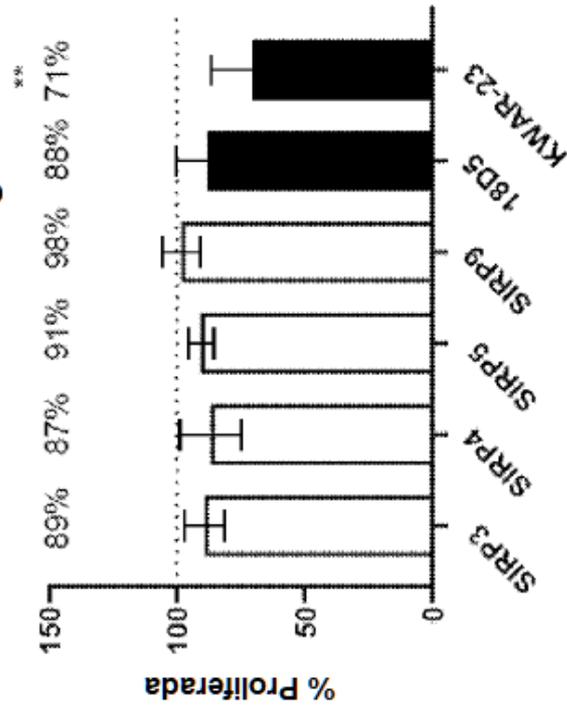
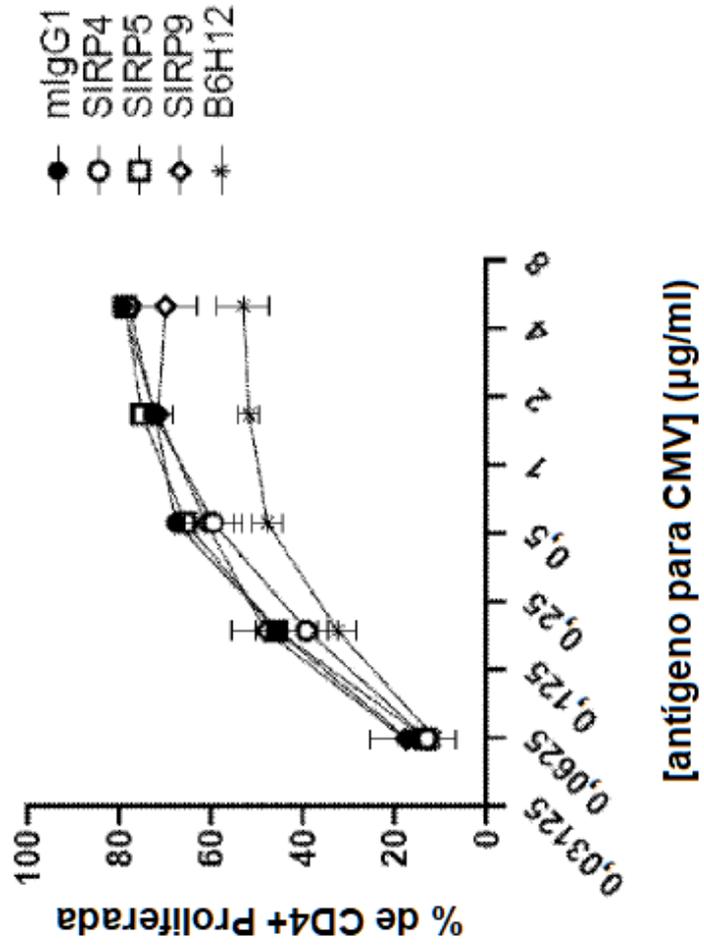


FIG. 15

Proliferação de CD4 em Ensaio de Antígeno de Memória para CMV



RESUMO

ANTICORPO MONOCLONAL, OU FRAGMENTO DE LIGAÇÃO AO ANTÍGENO DO MESMO; ANTICORPO BIESPECÍFICO; MÉTODO PARA PREVENIR OU TRATAR UM CÂNCER SUSCETÍVEL EM UM SER HUMANO; MÉTODO DE ENSAIO DE EXPRESSÃO DE SIRPA EM CÉLULAS TUMORAIS E/OU IMUNES; E; COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA

Trata-se de anticorpos monoclonais anti-SIRP α (mAbs anti-SIRP α), incluindo anticorpos SIRP α multiespecíficos, que são dotados de perfis funcionais distintos, assim como composições e métodos relacionados de uso de mAbs anti-SIRP α como terapêutica para a prevenção e tratamento de cânceres sólidos e hematológicos. Também são fornecidas sequências de aminoácidos de anticorpos monoclonais anti-SIRP α exemplificativas.

Este anexo apresenta o código de controle da listagem de sequências biológicas.

Código de Controle

Campo 1



Campo 2



Outras Informações:

- Nome do Arquivo: INOV3263_Listagem de sequências_CRP.txt
- Data de Geração do Código: 24/08/2021
- Hora de Geração do Código: 14:58:06
- Código de Controle:
 - Campo 1: 5DD1E6C75908366C
 - Campo 2: 8927BAB9A6C9DB1C