



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **120102** (13) **C2**

(51) МПК (2019.01)

C07K 16/28 (2006.01)

C12N 15/13 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 35/00

A61P 37/00

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

| | |
|--|--|
| <p>(21) Номер заявки: а 2017 05517</p> <p>(22) Дата подання заявки: 04.12.2015</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 10.10.2019</p> <p>(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 62/088,487</p> <p>(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 05.12.2014</p> <p>(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: US</p> <p>(41) Публікація відомостей про заявку: 11.12.2017, Бюл.№ 23</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.10.2019, Бюл.№ 19</p> <p>(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: PCT/US2015/063902, 04.12.2015</p> | <p>(72) Винахідник(и): Сан Ліпін Л. (US), Чен Івонн Мен-Йі (US), Деніс Марк С. (US), Ібенс Ален Ж., Жр. (US), Полсон Ендрю (US)</p> <p>(73) Власник(и): ДЖЕНЕНТЕК, ІНК., 1 DNA Way, South San Francisco, California 94080, United States of America (US)</p> <p>(74) Представник: Кістерський Кирило Арсенійович, реєстр. №207</p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WO 2009099728 A1, 13.08.2009 Wo 2009099179 A1, 13.08.2009 Wo 2009012256 A1, 22.01.2009 In vivo effects of targeting CD79b with antibodies and antibody-drug conjugates / Bing Zheng, Reina N. Fuji, Kristi Elkins et al. // Molecular cancer therapeutics. - 2009. - Vol. 8 (10). - P. 2937-2946 Therapeutic potential of an anti-CD79b antibody-drug conjugate, anti-CD79b-vc-MMAE, for the treatment of non-Hodgkin lymphoma / David Dornan, Fiona Bennett, Yvonne Chen et al. // BLOOD. - 2009. - Vol. 114 (13). - P. 2721-2729 WO 2014011521 A1, 16.01.2014 Antibody-drug conjugates targeted to CD79 for the treatment of non-Hodgkin lymphoma / Andrew G. Polson, Shang-Fan Yu, Kristi Elkins et al. // BLOOD. - 2007. - Vol. 110 (2). - P. 616-623</p> |
|--|--|

(54) АНТИТІЛО ДО CD79b І ЙОГО ЗАСТОСУВАННЯ

(57) Реферат:

Винахід стосується виділеного антитіла до CD79b, яке містить CD79b-зв'язуючий домен. Також винахід стосується виділеної нуклеїнової кислоти, що кодує антитіло до CD79b, вектора, клітини-хазяїна, способу одержання антитіла до CD79b, імунокон'югата, фармацевтичної композиції та застосування антитіла до CD79b у виробництві лікарського засобу для лікування

UA 120102 C2

або сповільнення прогресування розладу клітинної проліферації або аутоімунного захворювання.

ПЕРЕХРЕСНЕ ПОСИЛАННЯ НА СПОРІДНЕНІ ЗАЯВКИ

[0001] Дана заявка заявляє пріоритет Попередньої заявки на видачу патенту США № 62/088487, поданої 5 грудня 2014 року, яка включена до даного документу шляхом посилання в повному обсязі.

5 ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

[0002] Дана заявка містить Перелік послідовностей, поданий в електронній формі у форматі ASCII і включений до даного документу шляхом посилання в повному обсязі. Вказана копія ASCII, створена 2 грудня 2015 року, має назву P32464WO_PCTSequenceListing.txt, її розмір становить 43470 байт.

10 ГАЛУЗЬ ТЕХНІКИ

[0003] Цей винахід відноситься до анти-CD79b антитіл, включаючи анти-CD79b антитіла, що містять CD3-зв'язуючий домен (наприклад, анти-CD79b/CD3 Т-клітинозалежні біспецифічні антитіла (ТЗБ)), і способів їх застосування.

РІВЕНЬ ТЕХНІКИ

15 [0004] Порушення клітинної проліферації, такі як рак, характеризуються неконтрольованим ростом клітинних субпопуляцій. Вони є провідною причиною смертності у розвинених країнах і другою провідною причиною смерті в країнах, що розвиваються. Щорічно діагностують більше 12 млн нових випадків раку і 7 млн смертельних результатів внаслідок раку. За оцінками Національного інституту раку, більш ніж півмільйона американців помруть від раку у 2013 році, що становить майже одну з кожних чотирьох смертей у країні. По мірі зростання чисельності населення похилого віку, одночасно виросла і захворюваність на рак, оскільки після сімдесяти років вірогідність розвитку раку є вищою більш ніж удвічі. Таким чином, догляд за хворими на рак представляє значне, зростаюче соціальне навантаження, яке постійно збільшується.

20 [0005] CD79b є сигнальним компонентом В-клітинного рецептора і діє як ковалентний гетеродимер, що містить CD79a (тобто, IgA або mb-1) і CD79b (тобто, Igβ або b29). CD79b містить позаклітинний домен імуноглобуліну (Ig), трансмембранний домен і внутрішньоклітинний сигнальний домен, домен імунорецепторного мотиву активації на базі тирозину (IMAT). За допомогою проточної цитометрії поверхнева експресія CD79b була виявлена майже у всіх пацієнтів з неходжкінською лімфомою (НХЛ) і хронічним лімфоцитарним лейкозом (ХЛЛ). Dornan et al., Blood 114(13): 2721-9 (2009). На додаток до своєї сигнальної функції, у випадку, якщо В-клітинний рецептор є поперечно зшитим, він націлюється на компартмент головного комплексу гістосумісності класу II, лізосоми-подібний компартмент, що є частиною представлення антигену класу II В-клітинами.

25 [0006] Ця властивість біології CD79b робить його особливо привабливою мішенню для застосування кон'югату антитіло-лікарський засіб (АЛС), оскільки анти-CD79b антитіла інтерналізуються і доставляються у вказані лізосомальні компартменти, що, як відомо, містять протеазу, здатну вивільняти цитотоксичний лікарський засіб. Таким чином, були одержані кон'югати антитіло-лікарський засіб (АЛС), такі як гуманізоване анти-CD79b антитіло (гуманізоване SN8), кон'юговане з монометилауристатином Е (ММАЕ) за допомогою розщеплюваного протеазою лінкера), яке продемонструвало клінічну ефективність при лікуванні НХЛ. Див., наприклад, патент США № 8088378 і Morschhauser et al., "4457 Updated Results of a Phase II Randomized Study (ROMULUS) of Polatuzumab Vedotin or Pinatuzumab Vedotin Plus Rituximab in Patients with Relapsed/Refractory Non-Hodgkin Lymphoma" 56th ASH Annual Meeting and Exposition: December 6-9, 2014. Незважаючи на успіхи в лікуванні НХЛ і ХЛЛ із застосуванням терапевтичних засобів у формі анти-CD79b АЛС, як і раніше існує незадоволена потреба у вдосконалених терапевтичних засобах для лікування пацієнтів з НХЛ і ХЛЛ, зокрема, із захворюванням, резистентним до терапії анти-CD79b АЛС.

30 [0007] Нещодавно були розроблені імунотерапевтичні засоби на базі біспецифічних антитіл, які здатні одночасно зв'язуватися з антигенами на поверхні цитотоксичних клітин і пухлинних клітин, із тим, щоб зв'язана цитотоксична клітина руйнувала зв'язану пухлинну клітину. Такі біспецифічні антитіла можуть володіти перевагами, наприклад, ефективності та/або безпечності, в порівнянні з кон'югатами антитіло-лікарський засіб. Таким чином, в даній галузі техніки існує незадоволена потреба у розробці ефективних біспецифічних антитіл для застосування при лікуванні раку.

55 КОРОТКИЙ ОПИС СУТІ ВИНАХОДУ

[0008] У винаході пропонуються анти-CD79b антитіла і способи їх застосування. Зокрема, пропонуються анти-CD79b антитіла, що містять CD79b-зв'язуючий домен і CD3-зв'язуючий домен.

60 [0009] В одному аспекті даного винаходу пропонуються анти-CD79b антитіла, причому антитіло містить CD79b-зв'язуючий домен, що містить наступні шість гіперваріабельних ділянок

(HVR): (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5; (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 8; (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9; (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10; (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11; і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12.

[0010] У деяких варіантах реалізації винаходу CD79b-зв'язуючий домен містить наступні шість HVR: (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3; (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6; (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9; (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10; (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11; і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12. У деяких варіантах реалізації винаходу анти-CD79b антитіло містить (a) послідовність VH, що володіє щонайменше 95% ідентичністю послідовності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 17, 21, 23, 25, 27 або 29; (b) послідовність VL, що володіє щонайменше 95% ідентичністю послідовності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 18, 22, 24, 26, 28 або 30; або (c) послідовність VH, описану в (a), і послідовність VL, описану в (b). У деяких варіантах реалізації винаходу анти-CD79b містить послідовність VH, наведену у SEQ ID NO: 17, 21, 23, 25, 27 або 29. У деяких варіантах реалізації винаходу анти-CD79b антитіло містить послідовність VL, наведену у SEQ ID NO: 18, 22, 24, 26, 28 або 30.

[0011] У деяких варіантах реалізації винаходу CD79b-зв'язуючий домен містить наступні шість HVR: (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4; (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7; (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9; (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10; (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11; і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12. У деяких варіантах реалізації винаходу анти-CD79b антитіло містить (a) послідовність VH, що володіє щонайменше 95% ідентичністю послідовності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 19; (b) послідовність VL, що володіє щонайменше 95% ідентичністю послідовності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 20; або (c) послідовність VH, описану в (a), і послідовність VL, описану в (b). У деяких варіантах реалізації винаходу анти-CD79b антитіло містить послідовність VH, наведену у SEQ ID NO: 19. У деяких варіантах реалізації винаходу анти-CD79b антитіло містить послідовність VL, наведену у SEQ ID NO: 20.

[0012] У деяких варіантах будь-якого з анти-CD79b антитіл, CD79b-зв'язуючий домен зв'язується із SEQ ID NO: 63.

[0013] У деяких варіантах будь-якого з анти-CD79b антитіл, анти-CD79b антитіло (наприклад, CD79b-зв'язуючий домен) зв'язується з CD79b людини із Kd менш ніж близько 25 нМ для двохвалентного IgG антитіла з двома плечима, наприклад, менш ніж будь-яке значення із близько 10 нМ або 5 нМ. У деяких варіантах реалізації винаходу Kd визначають методом BIACORE. У деяких варіантах реалізації винаходу Kd визначають за допомогою CD79b, іммобілізованого з низькою щільністю. У деяких варіантах будь-якого з анти-CD79b антитіл, анти-CD79b антитіло (наприклад, CD79b-зв'язуючий домен) зв'язується із В-клітиною (наприклад, клітина BJAB) з EC₅₀ менш ніж близько 150 нг/мл для двохвалентного антитіла IgG з двома плечима, наприклад, менш ніж близько будь-якого значення із 100 нг/мл, 75 нг/мл або 50 нг/мл. У деяких варіантах реалізації винаходу зв'язування із В-клітиною визначають за допомогою сортування клітин з активованою флуоресценцією (СКАФ). У деяких варіантах будь-якого з анти-CD79b антитіл, анти-CD79b антитіло (наприклад, CD79b-зв'язуючий домен), яке зв'язується з CD79b людини, зв'язується із В-клітиною (наприклад, клітина BJAB) з EC₅₀ менш ніж близько 1,5 мкг/мл для одновалентного формату (наприклад, анти-CD79b біспецифічне антитіло, що містить CD79b і CD3-зв'язуючий домен), наприклад, менш ніж близько 1 мкг/мл, 0,75 мкг/мл, 0,5 мкг/мл або 0,25 мкг/мл. У деяких варіантах реалізації винаходу зв'язування з В-клітинами визначають за допомогою СКАФ.

[0014] У деяких варіантах будь-якого з анти-CD79b антитіл, анти-CD79b антитіло є моноклональним, людським, гуманізованим або химерним антитілом. У деяких варіантах будь-якого з анти-CD79b антитіл, антитіло є антитілом IgG. У деяких варіантах будь-якого з анти-CD79b антитіл, антитіло є фрагментом антитіла, який зв'язується з CD79b. У деяких варіантах реалізації винаходу фрагмент антитіла є фрагментом Fab, Fab'-SH, Fv, scFv та/або (Fab')₂. У деяких варіантах будь-якого з анти-CD79b антитіл, антитіло є повнорозмірним антитілом.

[0015] У деяких варіантах будь-якого з анти-CD79b антитіл, анти-CD79b антитіло містить мутацію сайту аглікозилювання. У деяких варіантах реалізації винаходу мутація сайту аглікозилювання є мутацією із заміною.

[0016] У деяких варіантах будь-якого з анти-CD79b антитіл, анти-CD79b антитіло володіє зниженою ефекторною функцією. У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло містить мутацію із заміною по амінокислотному залишку N297, L234, L235 та/або D265 згідно нумерації ЄС. У деяких варіантах реалізації винаходу мутація із заміною вибрана з групи, що складається

із N297G, N297A, L234A і L235A або D265A, згідно нумерації ЄС. У деяких варіантах антитіло містить мутацію із заміною N297G по амінокислотному залишку 297, згідно нумерації ЄС.

[0017] У деяких варіантах будь-якого з анти-CD79b антитіл, анти-CD79b антитіло є моноспецифічним антитілом (наприклад, двохвалентне антитіло з двома плечима).

[0018] У деяких варіантах будь-якого з анти-CD79b антитіл, анти-CD79b антитіло є

поліспецифічним антитілом.

[0019] У деяких варіантах будь-якого із поліспецифічних антитіл, поліспецифічне антитіло містить CD3-зв'язуючий домен. У деяких варіантах реалізації винаходу CD3-зв'язуючий домен зв'язується з поліпептидом CD3 людини або поліпептидом CD3 яванського макака (супо). У деяких варіантах реалізації винаходу поліпептид CD3 людини або поліпептид CD3 яванського макака є поліпептидом CD3ε людини або поліпептидом CD3ε яванського макака, відповідно. У деяких варіантах реалізації винаходу поліпептид CD3 людини або поліпептид CD3 яванського макака є поліпептидом CD3γ людини або поліпептидом CD3γ яванського макака, відповідно.

[0020] У деяких варіантах будь-якого із поліспецифічних антитіл, CD3-зв'язуючий домен зв'язується з поліпептидом CD3ε людини з Kd 250 нМ або менше. У деяких варіантах реалізації винаходу CD3-зв'язуючий домен зв'язується з поліпептидом CD3ε людини з Kd 100 нМ або менше. У деяких варіантах реалізації винаходу CD3-зв'язуючий домен зв'язується з поліпептидом CD3ε людини з Kd 15 нМ або менше. У деяких варіантах реалізації винаходу CD3-зв'язуючий домен зв'язується з поліпептидом CD3ε людини з Kd 10 нМ або менше. У деяких варіантах реалізації винаходу CD3-зв'язуючий домен зв'язується з поліпептидом CD3ε людини з Kd 5 нМ або менше.

[0021] У деяких варіантах будь-якого із поліспецифічних анти-CD79b антитіл, CD3-зв'язуючий домен містить наступні шість HVR: (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 45; (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 46; (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 47; (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 48; (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 49; і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 50. У деяких варіантах будь-якого із поліспецифічних анти-CD79b антитіл, CD3-зв'язуючий домен містить (a) послідовність VH, що володіє щонайменше 95% ідентичністю послідовності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 59; (b) послідовність VL, що володіє щонайменше 95% ідентичністю послідовності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 60; або (c) послідовність VH, описану в (a), і послідовність VL, описану в (b). У деяких варіантах реалізації винаходу CD3-зв'язуючий домен містить послідовність VH, наведену у SEQ ID NO: 59. В деяких варіантах реалізації винаходу CD3-зв'язуючий домен містить послідовність VL, наведену у SEQ ID NO: 60.

[0022] У деяких варіантах будь-якого із поліспецифічних анти-CD79b антитіл, CD3-зв'язуючий домен містить наступні шість HVR: (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 40; (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 41; (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 42; (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 43; і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 44. У деяких варіантах будь-якого із поліспецифічних анти-CD79b антитіл, CD3-зв'язуючий домен містить (a) послідовність VH, що володіє щонайменше 95% ідентичністю послідовності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 57; (b) послідовність VL, що володіє щонайменше 95% ідентичністю послідовності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 58; або (c) послідовність VH, описану в (a), і послідовність VL, описану в (b). У деяких варіантах реалізації винаходу CD3-зв'язуючий домен містить послідовність VH, наведену у SEQ ID NO: 57. У деяких варіантах реалізації винаходу CD3-зв'язуючий домен містить послідовність VL, наведену у SEQ ID NO: 58.

[0023] У деяких варіантах будь-якого із поліспецифічних анти-CD79b антитіл, CD3-зв'язуючий домен містить наступні шість HVR: (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 51; (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 52; (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 53; (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 54; (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55; і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 56. У деяких варіантах будь-якого із поліспецифічних анти-CD79b антитіл, CD3-зв'язуючий

домен містить (а) послідовність VH, що володіє щонайменше 95% ідентичністю послідовності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 61; (b) послідовність VL, що володіє щонайменше 95% ідентичністю послідовності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 62; або (c) послідовність VH, описану в (а), і послідовність VL, описану в (b). У деяких варіантах реалізації винаходу CD3-зв'язуючий домен містить послідовність VH, наведену у SEQ ID NO: 61. У деяких варіантах реалізації винаходу CD3-зв'язуючий домен містить послідовність VL, наведену у SEQ ID NO: 62.

[0024] У деяких варіантах будь-якого із поліспецифічних анти-CD79b антитіл, значення EC₅₀, при якому анти-CD79b антитіло спричиняє цитотоксичну дію на В-клітини, становить менш ніж близько 100 нг/мл, наприклад, менш ніж близько будь-якого із 50, 25, 20 або 15 нг/мл. У деяких варіантах реалізації винаходу цитотоксична дія на В-клітини є цитотоксичною дією на ендогенні В-клітини. У деяких варіантах реалізації винаходу цитотоксична дія на В-клітин є цитотоксичною дією на клітинну лінію В-клітин, наприклад, клітинну лінію BJAB, клітинну лінію WSU-CLCL2, клітинну лінію OCI-Ly-19. У деяких варіантах будь-якого із поліспецифічних анти-CD79b антитіл, значення EC₅₀ цитотоксичної активації Т-клітин анти-CD79b антитілами становить менш ніж близько 50 нг/мл, наприклад, менш ніж близько будь-якого із 25 нг/мл або 20 нг/мл. У деяких варіантах реалізації винаходу активацію цитотоксичних Т-клітин вимірюють як % CD69+ CD25+ Т-клітин серед CD8+ Т-клітин.

[0025] У деяких варіантах будь-якого із поліспецифічних анти-CD79b антитіл, поліспецифічне антитіло є біспецифічним антитілом.

[0026] У деяких варіантах будь-якого із поліспецифічних анти-CD79b антитіл, (а) CD3-зв'язуючий домен містить домен Fc, причому домен Fc містить мутації із заміною T366S, L368A, Y407V і N297G згідно нумерації ЕС, і (b) CD79b-зв'язуючий домен містить домен Fc, причому домен Fc містить мутації із заміною T366W і N297G згідно нумерації ЕС. У деяких варіантах будь-якого із поліспецифічних анти-CD79b антитіл, (а) CD79b-зв'язуючий домен містить домен Fc, причому домен Fc містить мутації із заміною T366S, L368A, Y407V і N297G згідно нумерації ЕС, і б) CD3-зв'язуючий домен містить домен Fc, причому домен Fc містить мутації із заміною T366W і N297G згідно нумерації ЕС.

[0027] У деяких варіантах будь-якого із поліспецифічних анти-CD79b антитіл, анти-CD79b антитіло містить один або більше константних доменів важкого ланцюга, при цьому один або більше константних доменів важкого ланцюга вибрані із першого домену CH1 (CH1₁), першого домену CH2 (CH2₁), першого домену CH3 (CH3₁), другого домену CH1 (CH1₂), другого домену CH2 (CH2₂) і другого домену CH3 (CH3₂). У деяких варіантах реалізації винаходу щонайменше один з одного або більше константних доменів важкого ланцюга спарений з іншим константним доменом важкого ланцюга. У деяких варіантах реалізації винаходу кожен з доменів CH3₁ і CH3₂ містить виступ або порожнину, причому виступ або порожнина в домені CH3₁ розташовані у порожнині або виступі домену CH3₂, відповідно. У деяких варіантах реалізації винаходу домени CH3₁ і CH3₂ зустрічаються на межі розділу між вказаним виступом і порожниною. У деяких варіантах реалізації винаходу кожен з доменів CH2₁ і CH2₂ містить виступ або порожнину, причому виступ або порожнина в домені CH2₁ розташовані у порожнині або виступі домену CH2₂, відповідно. У деяких варіантах реалізації винаходу домени CH2₁ і CH2₂ зустрічаються на межі розділу між вказаним виступом і порожниною.

[0028] У цьому винаході додатково пропонуються виділені нуклеїнові кислоти, що кодують анти-CD79b антитіло, описане у цьому документі. Крім того, пропонуються вектори, що містять виділену нуклеїнову кислоту, яка кодує описане у цьому документі анти-CD79b антитіло. У цьому винаході пропонуються клітини-хазяї, що містять вектор, який містить виділену нуклеїнову кислоту, що кодує описане у цьому документі анти-CD79b антитіло. У деяких варіантах реалізації винаходу клітина-хазяїн є еукаріотичною клітиною-хазяїном. У деяких варіантах реалізації винаходу клітина-хазяїн є клітиною-хазяїном ссавця (наприклад, клітини CHO). У деяких варіантах реалізації винаходу клітина-хазяїн є прокаріотичною клітиною-хазяїном. У деяких варіантах реалізації винаходу прокаріотична клітина-хазяїн є клітиною-хазяїном E. coli. У цьому винаході пропонуються додаткові способи одержання описаного у цьому документі анти-CD79b антитіла, причому спосіб включає культивування клітини-хазяїна, описаної у цьому документі, в поживному середовищі.

[0029] Додатково, у цьому винаході пропонуються імунокон'югати, що містять анти-CD79b антитіло, описане у цьому документі, і цитотоксичний агент.

[0030] У цьому винаході пропонуються фармацевтичні композиції, що містять описані у цьому документі анти-CD79b антитіла.

[0031] У цьому винаході пропонуються анти-CD79b антитіла, описані у цьому документі, для застосування як лікарський засіб. У цьому винаході пропонується анти-CD79b антитіло, описане

у цьому документі, для застосування при лікуванні або з метою уповільнення розвитку проліферативного розладу В-клітин або аутоімунного розладу у суб'єкта, який потребує цього. У цьому винаході пропонуються анти-CD79b антитіла, описані у цьому документі, для застосування з метою покращення імунної функції у суб'єкта з проліферативним розладом В-клітин або аутоімунним розладом. У деяких варіантах реалізації винаходу проліферативний розлад В-клітин є злоякісною пухлиною. У деяких варіантах реалізації винаходу проліферативний розлад В-клітин являє собою лімфому, неходжкінську лімфому (НХЛ), агресивну НХЛ, рецидивуючу агресивну НХЛ, рецидивуючу уповільнену НХЛ, рефрактерну НХЛ, рефрактерну уповільнену НХЛ, хронічний лімфоцитарний лейкоз (ХЛЛ), мілкоклітинну лімфоцитарну лімфому, лейкоз, волосатоклітинний лейкоз (ВКЛ), гострий лімфоцитарний лейкоз (ГЛЛ) та/або мантийноклітинну лімфому. У деяких варіантах будь-якого з проліферативних розладів В-клітин, проліферативний розлад В-клітин є резистентним до лікування кон'югатом анти-CD79b антитіло-лікарський засіб (наприклад, кон'югат анти-CD79b антитіло-лікарський засіб MMAE). У деяких варіантах реалізації винаходу аутоімунне захворювання вибрано з групи, що складається із ревматоїдного артриту, ювенільного ревматоїдного артриту, системного червоного вовчаку (ВКВ), хвороби Вегенера, запального захворювання кишечника, ідіопатичної тромбоцитопенічної пурпури (ІТП), тромбоцитопенічного акроангіотромбозу (ТАТ), аутоімунної тромбоцитопенії, множинного склерозу, псоріазу, IgA нефропатії, IgM поліневропатії, міастенії гравіс, васкуліту, цукрового діабету, синдрому Рейно, синдрому Шегрена, гломерулонефриту, нейромієліту зорового нерва (НМЗ) та IgG невропатії.

[0032] У цьому винаході пропонується застосування будь-якого з анти-CD79b антитіл, описаних у цьому документі, для одержання лікарського засобу для лікування або уповільнення прогресування розладу клітинної проліферації або аутоімунного розладу. У цьому винаході пропонується застосування будь-якого з анти-CD79b антитіл, описаних у цьому документі, для виробництва лікарського засобу з метою покращення імунної функції у суб'єкта з розладом клітинної проліферації або аутоімунним розладом. У деяких варіантах реалізації винаходу розлад проліферації В-клітин є злоякісною пухлиною. У деяких варіантах реалізації винаходу розлад проліферації В-клітин являє собою лімфому, неходжкінську лімфому (НХЛ), агресивну НХЛ, рецидивуючу агресивну НХЛ, рецидивуючу уповільнену НХЛ, рефрактерну НХЛ, рефрактерну уповільнену НХЛ, хронічний лімфоцитарний лейкоз (ХЛЛ), мілкоклітинну лімфоцитарну лімфому, лейкоз, волосатоклітинний лейкоз (ВКЛ), гострий лімфоцитарний лейкоз (ГЛЛ) та/або мантийноклітинну лімфому. У деяких варіантах будь-якого з проліферативних розладів В-клітин, проліферативний розлад В-клітин є резистентним до лікування кон'югатом анти-CD79b антитіло-лікарський засіб (наприклад, кон'югат антитіло-лікарський засіб анти-CD79b MMAE). У деяких варіантах реалізації винаходу аутоімунне захворювання вибрано з групи, що складається із ревматоїдного артриту, ювенільного ревматоїдного артриту, системного червоного вовчаку (ВКВ), хвороби Вегенера, запального захворювання кишечника, ідіопатичної тромбоцитопенічної пурпури (ІТП), тромбоцитопенічного акроангіотромбозу (ТАТ), аутоімунної тромбоцитопенії, множинного склерозу, псоріазу, IgA нефропатії, IgM поліневропатії, міастенії гравіс, васкуліту, цукрового діабету, синдрому Рейно, синдрому Шегрена, гломерулонефриту, нейромієліту зорового нерва (НМЗ) та IgG невропатії.

[0033] У цьому винаході пропонуються способи лікування або уповільнення прогресування розладу клітинної проліферації або аутоімунного розладу у суб'єкта, який потребує цього, причому спосіб включає введення суб'єкту анти-CD79b антитіла, описаного у цьому документі. У цьому винаході пропонуються способи підвищення імунної функції у суб'єкта з розладом клітинної проліферації або аутоімунним розладом, причому вказаний спосіб включає введення суб'єкту ефективної кількості анти-CD79b антитіла, описаного у цьому документі. У деяких варіантах реалізації винаходу проліферативний розлад В-клітин є злоякісною пухлиною. У деяких варіантах реалізації винаходу проліферативний розлад В-клітин являє собою лімфому, неходжкінську лімфому (НХЛ), агресивну НХЛ, рецидивуючу агресивну НХЛ, рецидивуючу уповільнену НХЛ, рефрактерну НХЛ, рефрактерну уповільнену НХЛ, хронічний лімфоцитарний лейкоз (ХЛЛ), мілкоклітинну лімфоцитарну лімфому, лейкоз, волосатоклітинний лейкоз (ВКЛ), гострий лімфоцитарний лейкоз (ГЛЛ) та/або мантийноклітинну лімфому. У деяких варіантах будь-якого з проліферативних розладів В-клітин, проліферативний розлад В-клітин є резистентним до лікування кон'югатом анти-CD79b антитіло-лікарський засіб (наприклад, кон'югат антитіло-лікарський засіб анти-CD79b MMAE). У деяких варіантах реалізації винаходу аутоімунне захворювання вибрано з групи, що складається із ревматоїдного артриту, ювенільного ревматоїдного артриту, системного червоного вовчаку (ВКВ), хвороби Вегенера, запального захворювання кишечника, ідіопатичної тромбоцитопенічної пурпури (ІТП), тромбоцитопенічного акроангіотромбозу (ТАТ), аутоімунної тромбоцитопенії, множинного

склерозу, псоріазу, IgA нефропатії, IgM поліневропатії, міастенії гравіс, васкуліту, цукрового діабету, синдрому Рейно, синдрому Шегрена, гломерулонефриту, нейромієліту зорового нерва (NM3) та IgG нефропатії.

[0034] У деяких варіантах будь-якого із способів анти-CD79b антитіло зв'язується з (a) молекулою CD3, розташованою на імунній ефекторній клітині і (b) молекулою CD79b, розташованою на В-клітині. У деяких варіантах реалізації винаходу анти-CD79b антитіло активує імунну ефекторну клітину після зв'язування з (a) і (b). У деяких варіантах будь-якого із способів, активована імунна ефекторна клітина здатна здійснювати цитотоксичну дію та/або апоптотичну дію на клітину-мішень.

[0035] У деяких варіантах будь-якого із способів, спосіб додатково включає введення суб'єкту антагоніста зв'язування по осі PD-1 або додаткового терапевтичного агента. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування по осі PD-1 є антагоністом зв'язування з PD-1. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування по осі PD-1 є антагоністом зв'язування з PD-L1. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування по осі PD-1 є антагоністом зв'язування з PD-L2.

[0036] У деяких варіантах будь-якого із способів, спосіб додатково включає введення суб'єкту глюкокортикоїду. У деяких варіантах реалізації винаходу глюкокортикоїд є дексаметазоном.

[0037] У деяких варіантах будь-якого із способів, спосіб додатково включає введення суб'єкту ритуксимабу.

КОРОТКИЙ ОПИС ФІГУР

[0038] Фіг. 1A-C ілюструють загибель ендогенних В-клітин під дією анти-CD79b/CD3 ТЗБ (Т-клітинозалежних біспецифічних) антитіл, одержаних у форматі В&П або у вигляді біс-Fab (різні клони анти-CD79b є спареними із клоном анти-CD3 UCNT1v9). 200000 моноклеарних клітин периферичної крові (МПК) інкубували в присутності або за відсутності анти-CD79b антитіл ТЗБ протягом 24 годин. Після закінчення інкубації кількість живих В-клітин підраховували шляхом гейтування по популяції CD19+/PI-. Відсоток загибелі В-клітин обчислювали наступним чином: $(\text{кількість живих В-клітин без ТЗБ} - \text{кількість живих В-клітин із ТЗБ}) / (\text{кількість живих В-клітин без ТЗБ}) * 100$.

[0039] Фіг. 2A-D ілюструють загибель В-клітин і здатність анти-CD79b/CD3 біс-Fab (CD79b.A7/UCNT1v9) до активації Т-клітин. А і В: 200000 МПК інкубували в присутності або за відсутності анти-CD79b антитіла ТЗБ протягом 24 годин. В кінці інкубації, кількість живих В-клітин підраховували шляхом гейтування по популяції CD19+/PI-. Відсоток загибелі В-клітин (А) обчислювали наступним чином: $(\text{кількість живих В-клітин без ТЗБ} - \text{кількість живих В-клітин із ТЗБ}) / (\text{кількість живих В-клітин без ТЗБ}) * 100$; активацію Т-клітин (В) вимірювали шляхом гейтування по клітинам CD69+/CD25+ в популяції CD8+ Т-клітин. С і D: 20000 клітин BJAB і 100000 CD8+ Т-клітин інкубували з анти-CD79b ТЗБ або без нього протягом 24 годин. В кінці інкубації кількість живих В-клітин підраховували шляхом гейтування по популяції CD19+/PI-. Відсоток загибелі В-клітин (С) обчислювали наступним чином: $(\text{кількість живих В-клітин без ТЗБ} - \text{кількість живих В-клітин із ТЗБ}) / (\text{кількість живих В-клітин без ТЗБ}) * 100$; активацію Т-клітин (D) вимірювали шляхом гейтування по клітинам CD69+/CD25+ в популяції CD8+ Т-клітин.

[0040] Фіг. 3A-C ілюструють афінність одновалентного або двовалентного зв'язування різних клонів анти-CD79b, виміряну методом СКАФ. Клітки BJAB інкубували з анти-CD79b антитілом (двовалентні антитіла з двома плечима) або анти-CD79b/CD3 антитілом ТЗБ, як вказано, протягом 30 хвилин на льоду. Після закінчення інкубації клітини промивали льодяним буфером СКАФ (1 x ФСБ, 2% БСА, 2 мМ ЕДТА), з подальшою інкубацією з міченим фікоеритрином (ФЕ) мишачим антитілом проти IgG людини (BD bioscience № 555787). Аналіз методом проточної цитометрії проводили на аналізаторі BD LSR. Зв'язування антитіл виражали у вигляді середньої інтенсивності флуоресценції (СІФ) флуорофору ФЕ. А: Афінність двовалентного зв'язування для клону анти-CD79b 2F2 в порівнянні з афінністю одновалентного зв'язування анти-CD79b клонів 2F2, SN8v28 і SN8new (у вигляді В&П ТЗБ); В: афінність зв'язування двовалентних анти-CD79b клонів CD79b.F6 і CD79b.A7 в порівнянні із зв'язуванням одновалентних анти-CD79b клонів CD79b.F6, CD79b.A7 і SN8v28 (у вигляді біс-Fab або В&П ТЗБ); С: афінність двовалентного зв'язування анти-CD79b клону CD79b.A7.v14 в порівнянні з одновалентним зв'язуванням анти-CD79b клону CD79b.A7.v14 (у вигляді В&П ТЗБ).

[0041] Фіг. 4A-B ілюструють вирівнювання (А) варіабельної ділянки важкого ланцюга (SEQ ID NO: 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27 і 29, відповідно, у порядку появи) і (В) варіабельної ділянки легкого ланцюга (SEQ ID NO: 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 і 30, відповідно, у порядку появи) варіантів антитіла CD79b.

[0042] Фіг. 5A-B ілюструють загибель В-клітин і активацію Т-клітин і здатність анти-CD79b/CD3 ТЗБ (CD79b.A7.v14, спарене із клоном анти-CD3 40G5c або 38E4v1). 200000 МПК інкубували в присутності або за відсутності анти-CD79b антитіла ТЗБ протягом 48 годин. Після закінчення інкубації кількість живих В-клітин підраховували шляхом гейтування по популяції CD19+/PI-. Відсоток загибелі В-клітин (А) обчислюють наступним чином: (кількість живих В-клітин без ТЗБ – кількість живих В-клітин із ТЗБ)/(кількість живих В-клітин без ТЗБ) * 100; активацію Т-клітин (В) вимірювали шляхом гейтування по клітинам CD69⁺/CD25⁺ в популяції CD8⁺ Т-клітин.

[0043] Фіг. 6A-B ілюструють загибель В-клітин і здатність анти-CD79b/CD3 ТЗБ до активації Т-клітин (CD79b.A7v14/38E4v1). 20000 клітин BJAB або WSU-DLCL2 і 100000 CD8⁺ Т-клітин інкубували в присутності або за відсутності анти-CD79b антитіла ТЗБ протягом 48 годин. Після закінчення інкубації кількість живих В-клітин підраховували шляхом гейтування по популяції CD19+/PI-. Відсоток загибелі В-клітин (А) обчислювали наступним чином: (кількість живих В-клітин без ТЗБ – кількість живих В-клітин із ТЗБ)/(кількість живих В-клітин без ТЗБ) * 100; активацію Т-клітин (В) вимірювали шляхом гейтування по клітинам CD69⁺/CD25⁺ в популяції CD8⁺ Т-клітин.

[0044] Фіг. 7A-C ілюструють цитотоксичну активність анти-CD79b/CD3 антитіла ТЗБ (a7.v14b/38E4v1) відносно В-клітин. 20000 клітин В лімфоми (як вказано) і 100000 CD8⁺ Т-клітин інкубували в присутності або за відсутності анти-CD79b антитіла ТЗБ протягом 48 годин. Після закінчення інкубації кількість живих В-клітин підраховували шляхом гейтування по популяції CD19+/PI-. Відсоток загибелі В-клітин обчислювали наступним чином: (кількість живих В-клітин без ТЗБ – кількість живих В-клітин із ТЗБ)/(кількість живих В-клітин без ТЗБ) * 100. А. ілюструє криву «доза-відповідь» загибелі В-клітин для клітин BJAB, WSU-DLCL2 і OCI-LY-19, з клітинами НТ як CD79b-негативним контролем; В-С. ілюструють загибель В-клітин при застосуванні 5000 нг/мл анти-CD79 ТЗБ (подвійний експеримент, середнє значення ± стандартне відхилення (СВ)).

[0045] Фіг. 8A-B ілюструють здатність анти-CD79b/CD3 антитіла ТЗБ (CD79b.A7.v14b/38E4v1) спричиняти загибель В-клітин in vitro та in vivo. Варіанти клітин BJAB (BJAB-CD79b ADC-R T1.1 і BJAB-SN8v28vcE CD79b ADC-R T1.2) були одержані з ксенотрансплантатів нечутливих BJAB пухлин у лікованих анти-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE мишей. А. ілюструє криву «доза-відповідь» загибелі клітин BJAB in vitro: 20000 клітин BJAB або варіанту BJAB (як проілюстровано) і 100000 CD8⁺ Т-клітин інкубували в присутності або за відсутності анти-CD79b/CD3 антитіла ТЗБ (CD79b.A7.v14b/38E4v1) протягом 48 годин. Після закінчення інкубації, кількість живих В-клітин підраховували шляхом гейтування по популяції CD19+/PI-. Відсоток загибелі В-клітин обчислювали наступним чином: (кількість живих В-клітин без ТЗБ – кількість живих В-клітин із ТЗБ)/(кількість живих В-клітин без ТЗБ) * 100; В. анти-CD79b/CD3 антитіло ТЗБ (CD79b.A7.v14b/38E4v1) запобігає росту пухлини BJAB in vivo: клітини BJAB і МПК здорових донорів змішували та інокулювали мишам підшкірно, після чого їх лікували, як вказано. Об'єм пухлини вимірювали протягом всього дослідження до 42 днів.

ДЕТАЛЬНИЙ ОПИС ВАРІАНТІВ РЕАЛІЗАЦІЇ ВІНАХОДУ

I. ВИЗНАЧЕННЯ

[0046] Термін «CD79b» у цьому документі позначає будь-який нативний CD79b із будь-якого джерела, що належить до хребетних, зокрема ссавців, таких як примати (наприклад, людина, яванський макак (супо)) і гризуни (наприклад, миші і щури), якщо не вказано інше. В цьому документі CD79b людини також має назву «Igβ», «b29», «DNA225786» або «PRO36249». Приклад послідовності CD79b, що містить сигнальну послідовність, наведений у SEQ ID NO: 1. Приклад послідовності CD79b без сигнальної послідовності наведений у SEQ ID NO: 2. Термін «CD79b» включає «повнорозмірний» непроцесований CD79b, а також будь-яку форму CD79b, що є результатом процесингу у клітині. Термін додатково включає варіанти CD79b, що зустрічаються в природі, наприклад, сплайсингові варіанти, алельні варіанти та ізоформи. Поліпептиди CD79b, описані у цьому документі, можуть бути виділені з різних джерел, наприклад із різних видів тканин людини або інших джерел, або одержані рекомбінантними або синтетичними способами. «Поліпептид CD79b з нативною послідовністю» включає поліпептид із такою ж послідовністю амінокислот, як відповідний CD79b поліпептид, одержаний із природних джерел. Така природна послідовність поліпептиду CD79b може бути виділена з природних джерел або може бути одержана рекомбінантними або синтетичними способами. Термін «поліпептид CD79b з нативною послідовністю» конкретно включає природні вкорочені або секретовані форми конкретного CD79b поліпептиду (наприклад, послідовність позаклітинного домену), природні варіантні форми (наприклад, альтернативні сплайсингові форми) і алельні варіанти поліпептиду, що зустрічаються у природі.

[0047] Термін «кластер диференціювання 3» або «CD3» у цьому документі позначає будь-який нативний CD3 із будь-якого джерела, що належить до хребетних, включаючи ссавців, таких як примати (наприклад, людина) і гризуни (наприклад, миші і щури), якщо не вказано інше, зокрема, наприклад, ланцюги CD3ε, CD3γ, CD3α і CD3β. Термін включає «повнорозмірний» непроцесований CD3 (наприклад, необроблений або немодифікований CD3ε або CD3γ), а також будь-яку форму CD3, що є результатом процесингу у клітині. Термін додатково включає варіанти CD3, що зустрічаються у природі, зокрема, наприклад, сплайсингові варіанти або алельні варіанти. CD3 включає, наприклад, білок людини CD3ε (NCBI RefSeq № NP_000724) розміром 207 амінокислот і білок людини CD3γ (NCBI RefSeq № NP_000064) розміром 182 амінокислоти.

[0048] Терміни «анти-CD79b антитіло» і «антитіло, яке зв'язується із CD79b» позначають антитіло, яке здатне зв'язуватися з CD79b із достатньою афінністю, таким чином, що антитіло є придатним як діагностичний та/або терапевтичний агент при націлюванні на CD79b. В одному варіанті реалізації винаходу ступінь зв'язування анти-CD79b антитіла з неспорідненим, не-CD79b білком становить менш ніж близько 10% від зв'язування антитіла із CD79b за даними вимірювання, наприклад, методом радіоімунаналізу (PIA). В деяких варіантах реалізації винаходу константа дисоціації (Kd) антитіла, яке зв'язується із CD79b, становить ≤ 1 мкМ, ≤ 100 нМ, ≤ 10 нМ, ≤ 1 нМ, $\leq 0,1$ нМ, $\leq 0,01$ нМ або $\leq 0,001$ нМ (наприклад, 10^{-8} М або менше, наприклад від 10^{-8} М до 10^{-13} М, наприклад, від 10^{-9} М до 10^{-13} М). У деяких варіантах реалізації винаходу анти-CD79b антитіло зв'язується з епітопом CD79b, який є консервативним для CD79b різних видів.

[0049] Терміни «анти-CD3 антитіло» і «антитіло, що зв'язується з CD3» позначають антитіло, яке здатне зв'язуватися з CD3 із достатньою афінністю, таким чином, що антитіло є придатним як діагностичний та/або терапевтичний агент при націлюванні на CD3. В одному варіанті реалізації винаходу ступінь зв'язування анти-CD3 антитіла з неспорідненим, не-CD3 білком становить менш ніж близько 10% від зв'язування антитіла із CD3, за даними вимірювання, наприклад, методом радіоімунаналізу (PIA). У деяких варіантах реалізації винаходу константа дисоціації (Kd) антитіла, яке зв'язується з CD3, становить ≤ 1 мкМ, ≤ 100 нМ, ≤ 10 нМ, ≤ 1 нМ, $\leq 0,1$ нМ, $\leq 0,01$ нМ або $\leq 0,001$ нМ (наприклад, 10^{-8} М або менше, наприклад, від 10^{-8} М до 10^{-13} М, наприклад, від 10^{-9} М до 10^{-13} М). У деяких варіантах реалізації винаходу анти-CD3 антитіло зв'язується з епітопом CD3, який є консервативним для CD3 різних видів.

[0050] Термін «антитіло» застосовується у цьому документі в широкому розумінні і включає різні структури антитіл, зокрема, але не обмежуючись цим, моноклональні антитіла, поліклональні антитіла, поліспецифічні антитіла (наприклад, біспецифічні антитіла), і фрагменти антитіл, до тих пір, поки вони виявляють бажану антигензв'язуючу активність.

[0051] «Фрагмент антитіла» позначає молекулу, відмінну від інтактного антитіла, яка містить частину інтактного антитіла, що зв'язується з антигеном, із яким зв'язується інтактне антитіло. Приклади фрагментів антитіла включають, але не обмежуючись цим, Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂; діатіла; лінійні антитіла; молекули одноланцюгових антитіл (наприклад, scFv); і поліспецифічні антитіла, утворені з фрагментів антитіл.

[0052] «Клас» антитіла позначає тип константного домену або константної ділянки, що міститься у важкому ланцюзі антитіла. Існує п'ять основних класів антитіл: IgA, IgD, IgE, IgG і IgM, причому деякі з них можуть бути додатково розділені на підкласи (ізотипи), наприклад, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ і IgA₂. Константні домени важкого ланцюга, що відповідають різним класам імуноглобулінів, називаються α, δ, ε, γ і μ, відповідно.

[0053] «Виділене» антитіло є антитілом, яке було відокремлене від компонентів його природного оточення. У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло очищають до чистоти більш ніж 95% або 99%, за даними, наприклад, електрофоретичного (наприклад, SDS-PAGE, ізоелектричне фокусування (ІЕФ), капілярний електрофорез) або хроматографічного способу (наприклад, іонообмінної або обернено-фазової ВЕРХ). Огляд способів оцінки чистоти антитіла, див., наприклад, у Flatman et al., J. Chromatogr. B 848: 79-87 (2007).

[0054] Терміни «повнорозмірне антитіло», «інтактне антитіло» і «суцільне антитіло» у цьому документі використовуються взаємозамінним чином по відношенню до антитіла, що має структуру по суті подібну структурі нативного антитіла, або що містить важкі ланцюги, які містять ділянку Fc, визначену у цьому документі.

[0055] Термін «моноклональне антитіло» у цьому документі позначає антитіло, одержане з популяції по суті гомогенних антитіл, тобто, окремі антитіла, що становлять популяцію, є ідентичними та/або зв'язуються з одним і тим же епітопом, за винятком можливих варіантів антитіл, наприклад, що містять природні або такі, що виникають в процесі виготовлення препарату моноклонального антитіла, мутації, причому такі варіанти звичайно присутні в

мінорних кількостях. На відміну від препаратів поліклональних антитіл, що звичайно містять різні антитіла, спрямовані проти різних детермінант (епітопів), кожне моноклональне антитіло у препараті моноклонального антитіла спрямоване проти однієї детермінанти на антигені. Таким чином, модифікатор «моноклональний» вказує на характер антитіла як одержаного з по суті

5 гомогенної популяції антитіл, і не повинен інтерпретуватися як такий, що вимагає одержання антитіла в будь-який конкретний спосіб. Наприклад, моноклональні антитіла для застосування у відповідності до даного винаходу можуть бути одержані за допомогою різних способів, зокрема, але не обмежуючись цим, гібридомним способом, способом рекомбінантної ДНК, способом фагового дисплею і способами із застосуванням трансгенних тварин, які несуть всі або частину

10 локусів імуноглобуліну людини, причому такі способи та інші приклади способів одержання моноклональних антитіл описані у цьому документі.

[0056] «Гуманізоване» антитіло позначає химерні антитіла, що містять амінокислотні залишки нелюдських HVR і амінокислотні залишки людських FR. У деяких варіантах реалізації винаходу гуманізоване антитіло буде містити по суті всі із щонайменше одного і звичайно двох

15 варіабельних доменів, у яких всі або в основному всі HVR (наприклад, CDR) відповідають ділянкам нелюдського антитіла, а всі або по суті всі FR відповідають ділянкам людського антитіла. Гуманізоване антитіло необов'язково може містити щонайменше частину константної ділянки антитіла, одержаного з антитіла людини. «Гуманізована форма» антитіла, наприклад, нелюдського антитіла, позначає антитіло, піддане гуманізації.

[0057] Термін «химерне» антитіло позначає антитіло, в якому частина важкого та/або легкого ланцюга одержана з конкретного джерела або виду, тоді як решта частини важкого та/або легкого ланцюга одержана з іншого джерела або виду.

[0058] «Людське антитіло» являє собою таке, що має амінокислотну послідовність, відповідну амінокислотній послідовності антитіла, продукованого в організмі людини або клітині

25 людини або одержаного з нелюдського джерела із застосуванням репертуарів антитіл людини або інших послідовностей, що кодують людські антитіла. Із цього визначення людського антитіла конкретно виключено гуманізоване антитіло, яке містить антигензв'язуючі залишки, що не відносяться до людського антитіла.

[0059] «Просте антитіло» позначає антитіло, не кон'юговане з гетерологічним фрагментом (наприклад, цитотоксичним фрагментом) або радіоактивною міткою. Просте антитіло може бути присутнім у фармацевтичній композиції.

[0060] «Нативні антитіла» позначають існуючі в природі молекули імуноглобуліну з різними структурами. Наприклад, нативні IgG антитіла являють собою гетеротетрамерні глікопротеїни розміром близько 150000 дальтон, що складаються із двох ідентичних легких ланцюгів і двох

35 ідентичних важких ланцюгів, зв'язаних дисульфідними містками. Від N- до C-кінця, кожен важкий ланцюг містить варіабельну ділянку (VH), що додатково називають варіабельним важким доменом або варіабельним доменом важкого ланцюга, і далі три константних ділянки (CH1, CH2 і CH3). Так само, від N- до C-кінця, кожен легкий ланцюг містить варіабельну ділянку (VL), що додатково називають варіабельним легким доменом або варіабельним доменом легкого ланцюга, і далі константний легкий (CL) домен. Легкий ланцюг антитіла може бути віднесений до одного із двох типів, що мають назву капа (κ) і лямбда (λ), на базі амінокислотних послідовностей їх константних доменів.

[0061] Термін «варіабельна ділянка» або «варіабельний домен» позначає домен важкого або легкого ланцюга антитіла, який бере участь у зв'язуванні антитіла з антигеном. Варіабельні домени важкого ланцюга і легкого ланцюга (VH і VL, відповідно) нативного антитіла, як правило, мають подібну структуру, причому кожен домен містить чотири консервативні каркасні ділянки (FR) і три гіперваріабельні ділянки (HVR) (Див., наприклад, Kindt et al. *Kuby Immunology*, 6th ed., W.H. Freeman and Co., page 91 (2007)). Одного домену VH або VL може бути достатньо, щоб забезпечити антигензв'язуючу специфічність. Крім того, антитіла, що зв'язуються з конкретним

50 антигеном, можуть бути виділені із застосуванням домену VH або VL антитіла, яке зв'язується з антигеном, для скринінгу бібліотеки комплементарних доменів VL і VH, відповідно. Див., наприклад, Portolano et al., *J. Immunol.* 150: 880-887 (1993); Clarkson et al., *Nature* 352: 624-628 (1991).

[0062] «Каркасна ділянка» або «FR» позначає залишки варіабельного домену, окрім залишків гіперваріабельної ділянки (HVR). FR варіабельного домену, як правило, складається із чотирьох FR доменів: FR1, FR2, FR3 і FR4. Відповідно, послідовності HVR і FR, як правило, з'являються у VH (або VL) в наступній послідовності: FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4.

[0063] Термін «гіперваріабельна ділянка» або «HVR» у цьому документі позначає кожну з ділянок варіабельного домену антитіла, послідовність («ділянки, що визначають комплементарність» або CDR) та/або форми структурно визначених петель («гіперваріабельні

60

петлі»), що є гіперваріабельними та/або які містять контактуючі з антигеном залишки («антигенні контакти»). Як правило, антитіла містять шість HVR: три у VH (H1, H2, H3) і три у VL (L1, L2, L3). Приклади HVR згідно даного винаходу включають:

(a) гіперваріабельні петлі в області амінокислотних залишків 26-32 (L1), 50-52 (L2), 91-96 (L3), 26-32 (H1), 53-55 (H2) і 96-101 (H3) (Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196: 901-917 (1987));

(b) CDR в області амінокислотних залишків 24-34 (L1), 50-56 (L2), 89-97 (L3), 31-35b (H1), 50-65 (H2) і 95-102 (H3) (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991));

(c) антигенні контакти в області амінокислотних залишків 27c-36 (L1), 46-55 (L2), 89-96 (L3), 30-35b (H1), 47-58 (H2) і 93-101 (H3) (MacCallum et al. J. Mol. Biol. 262: 732-745 (1996)); і

(d) комбінації (a), (b) та/або (c), зокрема амінокислотні залишки HVR 46-56 (L2), 47-56 (L2), 48-56 (L2), 49-56 (L2), 26-35 (H1), 26-35b (H1), 49-65 (H2), 93-102 (H3) і 94-102 (H3).

[0064] Якщо не вказано інше, у цьому документі залишки HVR та інші залишки у варіабельному домені (наприклад, FR-залишки) пронумеровані відповідно до Kabat et al., вище.

[0065] В цьому документі термін «Fc» використовується для визначення С-кінцевої ділянки важкого ланцюга імуноглобуліну, яка містить щонайменше частину константної ділянки. Термін включає нативні послідовності ділянок Fc і варіантні ділянки Fc. В одному варіанті реалізації винаходу ділянка Fc важкого ланцюга IgG людини простягається від Cys226 або Pro230 до карбоксильного кінця важкого ланцюга. Однак, С-кінцевий лізин (Lys447) ділянки Fc може бути присутній або відсутній. Якщо не вказано інше, нумерація амінокислотних залишків ділянки Fc або константної ділянки наведена згідно системи нумерації ЄС, що також має назву індексу ЄС, як описано у Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991.

[0066] «Варіантна ділянка Fc» містить амінокислотну послідовність, яка відрізняється від нативної послідовності ділянки Fc наявністю щонайменше однієї модифікації амінокислоти, переважно заміни однієї або більше амінокислот. Переважно, варіантна ділянка Fc містить щонайменше одну заміну амінокислоти в порівнянні з нативною послідовністю ділянки Fc або з ділянкою Fc початкового поліпептиду, наприклад, від близько однієї до близько десяти замін амінокислот, і переважно від близько однієї до близько п'яти замін амінокислот у нативній послідовності ділянки Fc або у ділянці Fc початкового поліпептиду. Варіантна ділянка Fc згідно даного винаходу переважно повинна володіти щонайменше 80% гомологією нативній послідовності ділянки Fc та/або ділянці Fc початкового поліпептиду, і, найбільш переважно, щонайменше близько 90% гомологією вказаним послідовностям, більш переважно, щонайменше близько 95% гомологією вказаним послідовностям.

[0067] «Консенсусний каркас людини» є каркасом, в якому представлені амінокислотні залишки у вибраних каркасних послідовностях VH або VL імуноглобуліну людини, що найчастіше зустрічаються. Як правило, вибір послідовності VH або VL імуноглобуліну людини здійснюється з підгрупи послідовностей варіабельного домену. В цілому, підгрупа послідовностей є такою підгрупою, як наведено у Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), vols. 1-3. В одному з варіантів реалізації винаходу, у випадку VL підгрупа є підгрупою капа I, як наведено у Kabat et al., вище. В одному варіанті реалізації винаходу, у випадку VH підгрупа являє собою підгрупу III, як наведено у Kabat et al., вище.

[0068] «Акцепторний каркас людини» для цілей даного винаходу являє собою каркас, що містить амінокислотну послідовність каркаса варіабельного домену легкого ланцюга (VL) або каркаса варіабельного домену важкого ланцюга (VH), одержаного із каркаса імуноглобуліну людини або консенсусного каркаса людини, як визначено нижче. Акцепторний каркас людини, «одержаний із» каркаса імуноглобуліну людини або консенсусного каркаса людини, може мати таку ж амінокислотну послідовність або він може містити модифікації амінокислотної послідовності. У деяких варіантах реалізації винаходу кількість модифікацій амінокислот становить 10 або менше, 9 або менше, 8 або менше, 7 або менше, 6 або менше, 5 або менше, 4 або менше, 3 або менше або 2 або менше. У деяких варіантах реалізації винаходу послідовність акцепторного каркаса людини VL є ідентичною каркасній послідовності імуноглобуліну людини VL або консенсусній каркасній послідовності людини.

[0069] «Афінність» позначає міцність загальної суми нековалентних взаємодій між одним сайтом зв'язування молекули (наприклад, антитіла) та її партнера по зв'язуванню (наприклад, антигену). Якщо не вказано інше, у цьому документі «афінність зв'язування» позначає справжню афінність зв'язування, яка відображає взаємодію 1:1 між членами пари, що зв'язується (наприклад, антитіла і антигену). Афінність молекули X по відношенню до її партнера Y загалом може бути представлена константою дисоціації (Kd). Афінність може бути

виміряна звичайними способами, відомими в даній галузі техніки, включаючи описані у цьому документі. Конкретні ілюстративні і типові варіанти реалізації винаходу для вимірювання афінності зв'язування описані нижче.

5 [0070] Антитіло із «зрілою афінністю» позначає антитіло, що містить одну або більше модифікацій в одній або більше гіперваріабельних ділянках (HVR) у порівнянні з початковим антитілом, що не містить таких модифікацій, причому такі модифікації приводять до покращення афінності антитіла до антигену.

10 [0071] «Зв'язуючий домен» позначає частину сполуки або молекули, яка специфічно зв'язується із цільовим епітопом, антигеном, лігандом або рецептором. Зв'язуючі домени включають, але не обмежуючись цим, антитіла (наприклад, моноклональні, поліклональні, рекомбінантні, гуманізовані і химерні антитіла), фрагменти антитіл або їх частини (наприклад, фрагменти Fab, Fab'2, scFv антитіла, низькомолекулярні модульні імунофармацевтичні засоби (НМІФ), доменні антитіла, діатіла, мінітіла, scFv-Fc, афітіла, нанотіла і VH та/або VL домени антитіл), рецептори, ліганди, аптамери та інші молекули з ідентифікованим партнером по зв'язуванню.

15 [0072] «Ефекторні функції» позначають такі види біологічної активності, які відносять на рахунок ділянки Fc антитіла і які варіюють в залежності від ізо типу антитіла. Приклади ефекторних функцій антитіла включають: зв'язування C1q і комплементзалежну цитотоксичність (КЗЦ); зв'язування з рецептором Fc; антитілозалежну клітинно-опосередковану цитотоксичність (АЗКЦ); фагоцитоз; зниження активності рецепторів клітинної поверхні (наприклад, В-клітинний рецептор); і активацію В-клітин.

[0073] «Імунокон'югат» являє собою антитіло, кон'юговане з однією або більше гетерологічними молекулами, в тому числі, але не обмежуючись цим, цитотоксичний агент.

20 [0074] Термін «цитотоксичний засіб» у цьому документі позначає речовину, яка інгібує або запобігає здійсненню функції клітин та/або спричиняє загибель або руйнування клітин. Цитотоксичні агенти включають, але не обмежуючись цим, радіоактивні ізотопи (наприклад, At²¹¹, I¹³¹, I¹²⁵, Y⁹⁰, Re¹⁸⁶, Re¹⁸⁸, Sm¹⁵³, Bi²¹², P³², Pb²¹² і радіоактивні ізотопи Lu), хіміотерапевтичні агенти або лікарські засоби (наприклад, метотрексат, адриаміцин, алкалоїди барвінку (вінкристин, вінбластин, етопозид), доксорубіцин, мелфалан, мітоміцин С, хлорамбуцил, даунорубіцин або інші інтеркалюючі агенти), агенти, що інгібують ріст; ферменти і їх фрагменти, такі як нуклеолітичні ферменти, антибіотики; токсини, такі як низькомолекулярні токсини або ферментативно активні токсини бактеріального, грибового, рослинного або тваринного походження, включаючи їх фрагменти та/або варіанти; і різні протипухлинні або протиракові агенти, описані нижче.

35 [0075] «Виділена» нуклеїнова кислота позначає молекулу нуклеїнової кислоти, яка була відокремлена від компоненту її природного оточення. Виділена нуклеїнова кислота включає молекулу нуклеїнової кислоти, що міститься у клітинах, які звичайно містять молекули нуклеїнової кислоти, причому молекула нуклеїнової кислоти знаходиться поза межами хромосоми або в локусі хромосоми, який відрізняється від її природного локусу у хромосомі.

40 [0076] «Виділена нуклеїнова кислота, що кодує анти-CD79b антитіло» позначає одну або більше молекул нуклеїнової кислоти, які кодують важкий і легкий ланцюги антитіла (або їх фрагменти), включаючи таку(і) молекулу(и) нуклеїнової кислоти в єдиному векторі або окремих векторах і таку(і) молекулу(и) нуклеїнової кислоти в одному або декількох локусах у клітині-хазяїні.

45 [0077] «Виділена нуклеїнова кислота, що кодує анти-CD3 антитіло» позначає одну або більше молекул нуклеїнової кислоти, що кодують важкий і легкий ланцюги антитіла (або їх фрагменти), включаючи таку(і) молекулу(и) нуклеїнової кислоти в єдиному векторі або окремих векторах і таку(і) молекулу(и) нуклеїнової кислоти в одному або декількох локусах у клітині-хазяїні.

50 [0078] Термін «вектор» у цьому документі позначає молекулу нуклеїнової кислоти, здатну розмножувати іншу нуклеїнову кислоту, з якою вона зв'язана. Термін включає вектори як самореplikовані конструкції нуклеїнової кислоти, а також вектор, інкорпорований до геному клітини-хазяїна, у яку він був введений. Деякі вектори здатні спрямовувати експресію нуклеїнових кислот, з якими вони функціонально пов'язані. Такі вектори позначені як «вектори експресії».

55 [0079] Терміни «клітина-хазяїн», «лінія клітин-хазяїв» і «культура клітин-хазяїв» застосовуються взаємозамінним чином і позначають клітини, у які була введена екзогенна нуклеїнова кислота, включаючи потомство таких клітин. Клітки-хазяї включають «трансформанти» і «трансформовані клітини», які включають первинно трансформовані клітини і одержане від них потомство, безвідносно до кількості пасажів. Потомство може не бути

повністю ідентичним батьківській клітині з точки зору вмісту нуклеїнових кислот і може містити мутації. Мутантне потомство, яке виконує таку ж функцію або володіє такою ж біологічною активністю, щодо якої проводився скринінг або відбір початково трансформованої клітини, включено до цього винаходу.

5 [0080] «Відсоток (%) ідентичності амінокислотної послідовності» відносно референтної послідовності поліпептиду визначається як відсоток амінокислотних залишків у послідовності-кандидаті, які є ідентичними амінокислотним залишкам у референтній поліпептидній послідовності, після вирівнювання послідовностей і при необхідності введення проміжків для досягнення максимального відсотка ідентичності послідовностей, без урахування будь-яких консервативних замінів як частини ідентичності послідовностей. Вирівнювання з метою визначення відсотка ідентичності амінокислотних послідовностей може бути здійснене різними шляхами, які знаходяться в межах кваліфікації фахівця в цій галузі техніки, наприклад, із застосуванням загальнодоступних комп'ютерних програм, таких як BLAST, BLAST-2, ALIGN або Megalign (DNASTAR). Фахівці в цій галузі можуть визначити відповідні параметри для вирівнювання послідовностей, включаючи будь-які алгоритми, необхідні для досягнення максимального вирівнювання по всій довжині порівнюваних послідовностей. Для цілей даного винаходу, однак, значення % ідентичності амінокислотних послідовностей генеруються із застосуванням комп'ютерної програми для порівняння послідовностей ALIGN-2. Комп'ютерна програма для порівняння послідовностей ALIGN-2 була створена компанією Genentech, Inc., і початковий код був поданий разом з документацією для користувачів в Бюро реєстрації авторських прав США, Вашингтон, округ Колумбія, 20559, де він був зареєстрований (реєстрація авторського права США № TXU510087). Програма ALIGN-2 публічно доступна в Genentech, Inc, Південний Сан-Франциско, Каліфорнія або може бути скопійована із початкового коду. Програму ALIGN-2 слід компілювати для використання в операційній системі UNIX, включаючи цифрову UNIX V4.0D. Всі параметри порівняння послідовностей задані програмою ALIGN-2 і не варіюються.

15 [0081] У ситуаціях, де ALIGN-2 застосовується для порівняння амінокислотних послідовностей, % ідентичності амінокислотних послідовностей між вказаною амінокислотною послідовністю А і вказаною амінокислотною послідовністю В (може бути альтернативно виражений як те, що вказана амінокислотна послідовність А володіє або містить визначений % ідентичності амінокислотної послідовності з вказаною амінокислотною послідовністю В) обчислюють наступним чином:

100 помножити на дріб X/Y

35 де Х є кількістю амінокислотних залишків, підрахованих у вигляді ідентичних збігів за допомогою програми співставлення послідовностей ALIGN-2, в якій співставляють А і В, а Y є загальною кількістю амінокислотних залишків у В. Необхідно розуміти, що якщо довжина амінокислотної послідовності А не є рівною довжині амінокислотної послідовності В, то % ідентичності амінокислотної послідовності А з послідовністю В не буде дорівнювати % ідентичності амінокислотної послідовності В з послідовністю А. Якщо конкретно не вказано інше, всі значення відсотка ідентичності амінокислотних послідовностей, застосовувані у цьому документі, одержані, як описано в попередньому параграфі, із застосуванням комп'ютерної програми ALIGN-2.

40 [0082] Термін «фармацевтичний препарат» позначає препарат, що має таку форму, яка забезпечує ефективний прояв біологічної активності активного інгредієнта, що міститься в ньому, і яка не містить додаткових компонентів, неприйнятно токсичних для суб'єкта, якому повинен вводитися препарат.

45 [0083] «Фармацевтично прийнятний носій» позначає інгредієнт у фармацевтичному препараті, який не є активним інгредієнтом, і, при цьому, є нетоксичним для суб'єкта. Фармацевтично прийнятний носій включає, але не обмежується цим, буфер, наповнювач, стабілізатор або консервант.

50 [0084] «Ефективна кількість» агента, наприклад, фармацевтичного препарату, позначає кількість, ефективну для досягнення бажаного терапевтичного або профілактичного результату в необхідних дозах і протягом необхідних періодів часу. Ефективна кількість згідно цього винаходу може варіювати відповідно до таких факторів, як патологічний стан, вік, стать і маса тіла пацієнта, а також здатність антитіла викликати бажану відповідь у індивіда. Крім того, ефективна кількість є такою, при якій терапевтично сприятливі ефекти переважають будь-які токсичні або шкідливі ефекти лікування. У випадку профілактичного застосування відповідні або необхідні результати включають такі результати як усунення або зниження ризику, зниження тяжкості або відтермінування в часі розвитку захворювання, включаючи біохімічні, гістологічні та/або поведінкові симптоми захворювання, його ускладнення і проміжні патологічні фенотипи,

що виявляються в ході розвитку захворювання. У випадку терапевтичного застосування, відповідні або необхідні результати включають клінічні результати, такі як зменшення одного або декількох симптомів, що є результатом захворювання, підвищення якості життя того, хто страждає на захворювання, зниження дози інших лікарських засобів, необхідних для лікування захворювання, підвищення ефективності іншого препарату, наприклад, шляхом націлювання, уповільнення розвитку захворювання та/або збільшення тривалості життя. У випадку раку або пухлини ефективна кількість лікарського засобу може викликати відповідь у формі зменшення кількості ракових клітин; зменшення розміру пухлини; пригнічення (тобто, зниження до певної міри і переважно зупинки) інфільтрації раковими клітинами периферичних органів; пригнічення (тобто, зниження до певної міри і переважно зупинки) метастазування пухлини; пригнічення до певної міри росту пухлини; та/або пом'якшення до певного ступеня одного або більше симптомів, пов'язаних із захворюванням. Ефективну кількість можна вводити в один або більше прийомів. Для цілей даного винаходу ефективна кількість лікарського засобу, сполуки або фармацевтичної композиції є кількістю, достатньою для досягнення профілактичного або терапевтичного ефекту, прямо або непрямо. Як прийнято розуміти в клінічному контексті, ефективна кількість лікарського засобу, сполуки або фармацевтичної композиції може бути або не бути досягнута в поєднанні з іншим лікарським засобом, сполукою або фармацевтичною композицією. Таким чином, «ефективну кількість» можна розглядати в контексті введення одного або більше терапевтичних агентів, і можна вважати, що єдиний агент вводиться в ефективній кількості, якщо в поєднанні з одним або більше інших агентів може бути досягнутий або досягається бажаний результат.

[0085] У цьому документі «лікування» (і його граматичні форми, такі як «лікувати» або «процес лікування») позначає клінічне втручання у спробі змінити природний хід подій в організмі індивіда, що підлягає лікуванню, яке може проводитися для профілактики або в ході клінічної патології. Бажані ефекти лікування включають, але не обмежуючись цим, запобігання виникненню або рецидиву захворювання, пом'якшення симптомів, зниження тяжкості будь-яких прямих або непрямих патологічних наслідків захворювання, запобігання метастазуванню, зниження швидкості прогресування захворювання, покращення або тимчасове полегшення патологічного стану і ремісію або покращення прогнозу. У деяких варіантах реалізації винаходу антитіла за винаходом застосовують для відтерміновування в часі розвитку захворювання або для уповільнення прогресування захворювання.

[0086] У цьому документі «уповільнення прогресування» розладу або захворювання означає відтерміновувати в часі, перешкоджати, сповільнювати, затримувати, стабілізувати та/або відстрочити розвиток захворювання або розладу (наприклад, розладу клітинної проліферації, такого як рак). Вказане уповільнення може варіювати за тривалістю в залежності від анамнезу захворювання та/або суб'єкта, що підлягає лікуванню. Як буде очевидним для фахівця в цій галузі техніки, достатнє або значне уповільнення може в дійсності включати запобігання в тому значенні, що у індивіда не розвивається захворювання. Наприклад, пізню стадію раку, таку як розвиток метастазів, може бути відтерміновано в часі.

[0087] «Зменшувати» або «пригнічувати» означає здатність спричиняти загальне зниження, наприклад, на 20% або більше, на 50% або більше або на 75%, 85%, 90%, 95% або більше. У деяких варіантах реалізації винаходу зменшувати або інгібувати може позначати ефекторну функцію антитіла, опосередковану ділянкою Fc антитіла, причому такі ефекторні функції конкретно включають комплементзалежну цитотоксичність (КЗЦ), антитілозалежну клітинну цитотоксичність (АЛСС) і антитілозалежний клітинний фагоцитоз (АЗКФ).

[0088] «Хіміотерапевтичний агент» позначає хімічну сполуку, придатну для лікування раку. Приклади хіміотерапевтичних агентів включають алкілувальні агенти, такі як тіотепа і циклофосфамід (CYTOXAN®); алкілсульфонати, такі як бусульфан, імпросульфан і піпосульфан; азиридины, такі як бензодопа, карбоквон, метуредопа і уредопа; етиленіміни і метиламеламіни, включаючи альтретамін, триетиленмеламін, триетиленфосфорамід, триетилентіофосфорамід і триметилмеламін; ацетогеніни (особливо булатацин і булатацинон); дельта-9-тетрагідроканабінол (дронабінол, MARINOL®); бета-лапахон; лапахол; колхіцини; бетулінову кислоту; камптотецин (включаючи синтетичний аналог топотекан (HYCAMTIN®), CPT-11 (іринотекан, CAMPTOSAR®), ацетилкамптотецин, скополектин і 9-амінокамптотецин); бріостатин; калістатин; CC-1065 (включаючи його синтетичні аналоги адозелезин, карзелезин і бізелезин); подофілотоксин; подофілінову кислоту; теніпозид; криптофіцини (особливо криптофіцин 1 і криптофіцин 8); доластатин; дуокарміцин (включаючи синтетичні аналоги, KW-2189 і CB1-TM1); елеутеробін; панкратистатин; саркодиктін; спонгістатин; похідні іпритного нітрогену, такі як хлорамбуцил, хлорнафазин, хлорофосфамід, естрамустин, іфосфамід, мехлоретамін, гідрохлорид оксиду мехлоретаміну, мелфалан,

новембіхін, фенестерин, преднімустин, трофосфамід, іпритний урацил; похідні нітросечовини, такі як кармустин, хлорозотоцин, фотемустин, ломустин, німустин і ранімнустин; антибіотики, такі як енедіїнові антибіотики (наприклад, каліхеаміцин, особливо каліхеаміцин гама 1I і каліхеаміцин омега 1I (див., наприклад, Nicolaou et al., Angew. Chem Intl. Ed. Engl., 33: 183-186 (1994)); CDP323, пероральний інгібітор альфа-4 інтегрину; динеміцин, включаючи динеміцин А; еспераміцин; а також неокарциностатиновий хромофор і споріднені хромофори хромопротеїнів енедіїнових антибіотиків), аклациномізини, актиноміцин, аутраміцин, азасерин, блеоміцини, кактиноміцин, карабіцин, карміноміцин, карцинофілін, хромоміцини, дактиноміцин, даунорубіцин, деторубіцин, 6-діазо-5-оксо-L-норлейцин, доксорубіцин (включаючи ADRIAMYCIN®, морфолінодоксорубіцин, ціаноморфолінодоксорубіцин, 2-піролінодоксорубіцин, ліпосомальний доксорубіцин HCl для ін'єкцій (DOXIL®), ліпосомальний доксорубіцин TLC D-99 (MYOCET®), пегільований ліпосомальний доксорубіцин (CAELYX®) і дезоксидоксорубіцин), епірубіцин, езорубіцин, ідарубіцин, марцеломіцин, мітоміцини, такі як мітоміцин С, мікофенольна кислота, ногаламіцин, оливоміцини, пепломіцин, порфіроміцин, пуроміцин, квелаоміцин, родорубіцин, стрептонігрин, стрептозоцин, туберцидин, убенімекс, зиностатин, зорубіцин; антиметаболіти, такі як метотрексат, гемцитабін (GEMZAR®), тегафур (UFTORAL®), капецитабін (XELODA®), епотилон і 5-флуорурацил (5-FU); аналоги фолієвої кислоти, такі як деноптерин, метотрексат, птероптерин, триметрексат; аналоги пурину, такі як флударабін, 6-меркаптопурин, тіаміприн, тіогуанін; аналоги піримідину, такі як амцитабін, азацитидин, 6-азауридин, кармофур, цитарабін, дидезоксиуридин, доксифлуридин, еноцитабін, флоксуридин; андрогени, такі як калустерон, дромостанолону пропіонат, епітіостанол, мепітіостан, тестолактон; засоби, що пригнічують функцію наднирників, такі як аміноглютетимід, мітотан, трилостан; аналоги фолієвої кислоти, такі як фролінова кислота; ацеглатон; глікозид альдофосфаміду; амінолевулінову кислоту; енілурацил; амсакрин; бестрабуцил; бісантрен; едатраксат; дефофамін; демеколцин; діазиквон; елфорнітин; еліптиній ацетат; епотилон; етоглуцид; галій нітрат; гідроксисечовину; лентінан; лонідаїнін; майтансиноїди, такі як майтансин і ансамітоцини; мітогуазон; мітоксантрон; мопідамол; нітраерин; пентостатин; фенамет; пірарубіцин; лозоксантрон; 2-етилгідрозид; прокарбазин; полісахаридний комплекс PSK® (JHS Natural Products, Юджин, Орегон); разоксан; ризоксин; сизофіран; спірогерманій; тенауазонову кислоту; триазиквон; 2,2',2''-трихлортриетиламін; трихотецени (особливо токсин Т-2, веракурин А, роридин А і ангуїдин); уретан; віндезин (ELDISINE®, FILDESIN®); дакарбазин; маномустин; мітобронітол; мітолактол; піпоброман; гацитозин; арабінозид («Ара-С»); тіотепа; таксоїд, наприклад, паклітаксел (TAXOL®), модифікований альбуміном препарат наночастинок паклітакселу (ABRAXANETM) і доцетаксел (TAXOTERE®); хлорамбуцил; 6-тіогуанін; меркаптопурин; метотрексат; похідні платини, такі як цисплатин, оксаліплатин (наприклад, ELOXATIN®) і карбоплатин; алкалоїди барвінку, які запобігають полімеризації тубуліну при утворенні мікротрубочок, включаючи вінбластин (VELBAN®), вінкрисдин (ONCOVIN®), віндезин (ELDISINE®, FILDESIN®) і вінорельбін (NAVELBINE®); етопозид (VP-16); іфосфамід; мітоксантрон; лейковорин; новантрон; едатрексат; дауноміцин; аміноптерин; ібандронат; інгібітор топоізомерази RFS 2000; дифлуорметилорнітин (DMFO); ретиноїди, такі як ретиноева кислота, включаючи бексаротен (TARGRETIN®); біфосфонати, такі як клодронат (наприклад, BONEFOS® або OSTAC®), етидронат (DIDROCAL®), NE-58095, золедронову кислоту/золедронат (ZOMETA®), алендронат (FOSAMAX®), памідронат (AREDIA®), тилудронат (SKELID®) або ризедронат (ACTONEL®); троксацитабін (аналог 1,3-діоксоланового нуклеозиду цитозину); антисмислові олігонуклеотиди, особливо ті, які інгібують експресію генів у шляхах передачі сигналів, що беруть участь в абераційній проліферації клітин, таких як, наприклад, PKC-альфа, Raf, H-Ras і рецептор епідермального фактора росту (EGF-R); вакцини, такі як вакцина THERATOPE® і вакцини генної терапії, наприклад, вакцина ALLOVECTIN®, вакцина LEUVECTIN® і вакцина VAXID®; інгібітор топоізомерази 1 (наприклад, LURTOTECAN®); rmRH (наприклад, ABARELIX®); BAY439006 (сорафеніб; Bayer); SU-11248 (сунітиніб, SUTENT®, Pfizer); перифозин, інгібітор ЦОГ-2 (наприклад, целекоксиб або еторикоксиб), інгібітор протеасоми (наприклад, PS341); бортезоміб (VELCADE®); CCI-779; типіфарніб (R11577); орафеніб, ABT510; інгібітор Bcl-2, такий як облімерсен-натрій (GENA-SENSE®); піксантрон; інгібітори EGFR (див. визначення нижче); інгібітори тирозинкінази; інгібітори серин-треонінкінази, такі як рапаміцин (сиролімус, RAPAMUNE®); інгібітори фарнезилтрансферази, такі як лонафарніб (SCH-6636, SARASARTM); і фармацевтично прийнятні солі, кислоти або похідні будь-якого із вказаних вище; а також комбінації двох або більше із вказаних вище, такі як CHOP, аббревіатура для комбінованої терапії циклофосфамідом, доксорубіцином, вінкристином і преднізолоном; і FOLFOX, аббревіатура для лікування оксаліплатином (ELOXATINTM) у поєднанні з 5-ФУ і лейковорином.

[0089] Хіміотерапевтичні агенти, як визначено у цьому документі, включають «антигормональні агенти» або «ендокринні терапевтичні засоби», дія яких спрямована на регуляцію, зниження, блокування або пригнічення дії гормонів, здатних стимулювати ріст раку. Вони самі по собі можуть бути гормонами, зокрема, але не обмежуючись цим: антиестрогени із змішаним профілем агоністу/антагоністу, включаючи тамоксифен (NOLVADEX®), 4-гідрокситамоксифен, тореміфен (FARESTON®), ідоксифен, дролоксифен, ралоксифен (EVISTA®) триоксифен, кеоксифен, і селективні модулятори естрогенових рецепторів (SERM) такі як SERM3; чисті антиестрогени, без агоністичних властивостей, такі як фулвестрант (FASLODEX®) і EM800 (такі агенти можуть блокувати димеризацію естрогенових рецепторів (EP), інгібувати зв'язування з ДНК, прискорювати обіг EP та/або знижувати рівні EP); інгібітори ароматази, включаючи стероїдні інгібітори ароматази, такі як форместан, екземестан (AROMASIN®), і нестероїдні інгібітори ароматази, такі як анастрозол (ARIMIDEX®), летрозол (FEMARA®) і аміноглютетимід, та інші інгібітори ароматази, включаючи ворозол (RIVISOR®), мегестролу ацетат (MEGASE®), фадрозол і 4(5)-імідазоли, агоністи лютеїнізуючого релізінг-гормону, включаючи лейпролід (LUPRON® і ELIGARD®), гозерелін, бузерелін і триптерелін; статеві стероїди, включаючи прогестини, наприклад, медроксипрогестерону ацетат і мегестролу ацетат, естрогени, такі як діетилстільбестрол і премарин, та андрогени/ретиноїди, такі як флуоксиместерон, трансретіноєва кислота і фенретинід; онапристон; антипрогестерони; супресори естрогенових рецепторів (CEP); антиандрогени, такі як флутамід, нілутамід і бікалутамід; і фармацевтично прийнятні солі, кислоти або похідні будь-якого із вказаних вище, а також комбінації двох або більше із вказаних вище.

[0090] Термін «імуносупресивний агент», застосовуваний у цьому документі для позначення допоміжної терапії, позначає речовини, дія яких направлена на пригнічення або маскуванню імунної системи ссавця, що підлягає лікуванню. Вони можуть включати речовини, що пригнічують продукування цитокінів, знижують або пригнічують експресію аутоантигену або маскують антигени основного комплексу гістосумісності (ОКГ). Приклади таких агентів включають 2-аміно-6-арил-5-заміщені піримідини (див. патент США № 4665077); нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП); ганцикловір, такролімус, глюкокортикоїди, такі як кортизол або альдостерон, протизапальні агенти, такі як інгібітор циклооксигенази, інгібітор 5-ліпоксигенази, антагоніст рецепторів лейкотрієну; пуринові антагоністи, такі як азатіоприн або мікофенолят мофетил (ММФ); алкілувальні агенти, такі як циклофосфамід; бромкриптин; даназол; дапсон; глутаровий альдегід (який маскує антигени ОКГ, як описано у патенті США № 4120649); антиідіотипові антитіла для антигенів ОКГ і фрагментів ОКГ; циклоспорин А; стероїди, такі як кортикостероїди або глюкокортикостероїди або аналоги глюкокортикоїдів, наприклад, преднізон, метилпреднізолон, включаючи SOLU-MEDROL®, метилпреднізолон натрій сукцинат і дексаметазон; інгібітори дигідрофолатредуктази, такі як метотрексат (перорально або підшкірно); протималарійні засоби, такі як хлорохін і гідроксихлорохін; сульфасалазин; лефлуномід; антитіла рецептора цитокіну або цитокінів, зокрема антитіла проти інтерферону-альфа, -бета або -гама, антитіла проти пухлинного некротичного фактору (TNF)-альфа (інфліксимаб (REMICADE®) і адаліумаб), проти TNF-альфа імуноадгезину (етанерсепт), антитіла проти TNF-бета, антитіла проти інтерлейкіну-2 (IL-2) і антитіла проти рецептора IL-2 та антитіла і антагоністи проти рецептора інтерлейкіну-6 (IL-6) (такі як АСТЕМРА™ (тоцилізумаб)); анти-LFA-1-антитіла, включаючи анти-CD11a, анти-CD18 антитіла; анти-L3T4 антитіла; гетерологічний антилімфоцитарний глобулін; антитіла рап-Т, переважно анти-CD3 або анти-CD4/CD4a антитіла; розчинний пептид, що містить LFA-3-зв'язуючий домен (WO 90/08187, опублікована 7/26/90); стрептокіназу; трансформуючий фактор росту бета (TGF-бета); стрептодомазу; РНК або ДНК хазяїна; FK506; RS-61443; дезоксиспергуалін; хлорамбуцил; рапаміцин; Т-клітинний рецептор (Cohen із співавт, патент США № 5114721); фрагменти Т-клітинного рецептора (Offner et al., Science, 251: 430-432 (1991); WO 90/11294; Ianeway, Nature, 341: 482 (1989); і WO 91/01133), антагоністи фактору активації В-лімфоцитів (BAFF), такі як антитіла проти BAFF, антитіла проти BR3 і антагоністи zTNF4 (огляд див. у Mackay and Mackay, Trends Immunol., 23: 113-5 (2002), а також див. визначення нижче); біологічні агенти, які перешкоджають проведенню сигналів хелперних Т-клітин, такі як антитіла проти рецептора CD40 або ліганду CD40 (CD154), зокрема, блокуючі антитіла проти CD40-ліганду CD40 (наприклад, Durie et al., Science, 261: 1328-30 (1993); Mohan et al., J. Immunol., 154: 1470-80 (1995)) і CTLA4-Ig (Finck et al., Science, 265: 1225-7 (1994)); і антитіла проти Т-клітинного рецептора (EP 340109), такі як T10B9. Деякі переважні імуносупресивні агенти включають циклофосфамід, хлорамбуцил, азатіоприн, лефлуномід, ММФ або метотрексат.

[0091] Термін «антагоніст зв'язування по осі PD-1» позначає молекулу, яка інгібує взаємодію партнера по зв'язуванню по осі PD-1 з одним або більше його партнерами по зв'язуванню,

таким чином, щоб усунути дисфункцію Т-клітин, яка виникає в результаті проведення сигналу по осі проведення сигналу PD-1, результатом чого є відновлення або підсилення функції Т-клітин (наприклад, проліферація, продукування цитокінів, цільова загибель клітин). У цьому документі антагоніст зв'язування по осі PD-1 включає антагоніст зв'язування з PD-1, антагоніст зв'язування з PD-L1 і антагоніст зв'язування з PD-L2.

[0092] Термін «антагоніст зв'язування з PD-1» позначає молекулу, яка зменшує, блокує, інгібує, виключає або перешкоджає трансдукції сигналу в результаті взаємодії PD-1 з одним або більше його партнерами по зв'язуванню, такими як PD-L1, PD-L2. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування з PD-1 є молекулою, яка інгібує зв'язування PD-1 з одним або більше його партнерами по зв'язуванню. У конкретному аспекті антагоніст зв'язування з PD-1 інгібує зв'язування PD-1 із PD-L1 та/або PD-L2. Наприклад, антагоністи зв'язування з PD-1 включають антитіла проти PD-1, антигензв'язуючі фрагменти, імуноадгезини, химерні білки, олігопептиди та інші молекули, які знижують, блокують, інгібують, виключають або перешкоджають трансдукції сигналу в результаті взаємодії PD-1 з PD-L1 та/або PD-L2. В одному варіанті реалізації винаходу антагоніст зв'язування з PD-1 зменшує негативний костимулювальний сигнал, що опосередкований або проводиться білками клітинної поверхні, експресованими на Т-лімфоцитах, опосередкований проведенням сигналу через PD-1, щоб зробити дисфункцію Т-клітин менш вираженою (наприклад, підсилення ефекторних відповідей на розпізнавання антигену). У деяких варіантах реалізації винаходу, антагоніст зв'язування з PD-1 є антитілом проти PD-1. У конкретному аспекті антагоніст зв'язування з PD-1 являє собою MDX-1106 (ніволумаб), описаний у цьому документі. В іншому конкретному аспекті антагоніст зв'язування з PD-1 являє собою MK-3475 (ламбrolізумаб), описаний у цьому документі. В іншому конкретному аспекті антагоніст зв'язування PD-1 являє собою CT-011 (підилізумаб), описаний у цьому документі. В іншому конкретному аспекті антагоніст зв'язування з PD-1 являє собою AMP-224, описаний у цьому документі.

[0093] Термін «антагоніст зв'язування з PD-L1» позначає молекулу, яка зменшує, блокує, інгібує, виключає або перешкоджає трансдукції сигналу в результаті взаємодії PD-L1 з одним або більше його партнерами по зв'язуванню, таких як PD-1, B7-1. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування з PD-L1 є молекулою, яка інгібує зв'язування PD-L1 з його партнерами по зв'язуванню. У конкретному аспекті антагоніст зв'язування з PD-L1 інгібує зв'язування PD-L1 з PD-1 та/або B7-1. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоністи зв'язування з PD-L1 включають антитіла проти PD-L1, антигензв'язуючі фрагменти, імуноадгезини, химерні білки, олігопептиди та інші молекули, які знижують, блокують, інгібують, виключають або перешкоджають трансдукції сигналу в результаті взаємодії PD-L1 з одним або більше його партнерами по зв'язуванню, таких як PD-1, B7-1. В одному варіанті реалізації винаходу антагоніст зв'язування з PD-L1 зменшує негативний костимулювальний сигнал, що опосередкований або проводиться білками клітинної поверхні, експресованими на Т-лімфоцитах, опосередкований проведенням сигналу через PD-L1, щоб зробити дисфункцію Т-клітин менш вираженою (наприклад, підсилення ефекторних відповідей на розпізнавання антигену). У деяких варіантах реалізації винаходу, антагоніст зв'язування з PD-L1 є антитілом проти PD-L1. У конкретному аспекті антитіло проти PD-L1 являє собою YW243.55.S70, описане у цьому документі. В іншому конкретному аспекті антитіло проти PD-L1 являє собою MDX-1105, описане у цьому документі. У ще одному конкретному аспекті антитіло проти PD-L1 являє собою MPDL3280A, описане у цьому документі. У ще одному конкретному аспекті антитіло проти PD-L1 являє собою MEDI4736, описане у цьому документі.

[0094] Термін «антагоніст зв'язування з PD-L2» позначає молекулу, яка зменшує, блокує, інгібує, виключає або перешкоджає трансдукції сигналу в результаті взаємодії PD-L2 з одним або більше його партнерами по зв'язуванню, таких як PD-1. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування з PD-L2 є молекулою, яка інгібує зв'язування PD-L2 з одним або більше його партнерами по зв'язуванню. У конкретному аспекті антагоніст зв'язування з PD-L2 інгібує зв'язування PD-L2 з PD-1. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоністи зв'язування з PD-L2 включають антитіла проти PD-L2, антигензв'язуючі фрагменти, імуноадгезини, химерні білки, олігопептиди та інші молекули, які знижують, блокують, інгібують, виключають або перешкоджають трансдукції сигналу в результаті взаємодії PD-L2 з одним або більше його партнерами по зв'язуванню, таких як PD-1. В одному варіанті реалізації винаходу антагоніст зв'язування з PD-L2 зменшує негативний костимулювальний сигнал, що опосередкований або проводиться білками клітинної поверхні, експресованими на Т-лімфоцитах, опосередкований проведенням сигналу через PD-L2, щоб зробити дисфункцію Т-клітин менш вираженою (наприклад, підсилення ефекторних відповідей на розпізнавання

антигену). У деяких варіантах реалізації винаходу, антагоніст зв'язування з PD-L2 є імуноадгезином.

[0095] Термін «пухлина» позначає будь-який неопластичний ріст і проліферацію клітин, злаякісну або доброякісну, і всі передракові і ракові клітини і тканини. Терміни «рак», «раковий», «розлад клітинної проліферації», «проліферативний розлад» і «пухлина» у цьому документі не є взаємовиключними.

[0096] Терміни «розлад клітинної проліферації» і «проліферативний розлад» позначають розлади, пов'язані з певною мірою аномальної проліферації клітин. В одному варіанті реалізації винаходу порушення клітинної проліферації є раком.

[0097] Терміни «рак» і «раковий» позначають або описують фізіологічний стан у ссавців, який звичайно характеризується нерегульованим ростом/проліферацією клітин. Приклади раку включають, але не обмежуються цим, карциному, лімфому (наприклад, лімфому Ходжкіна і неходжкінську лімфому, бластоми, саркому і лейкоз).

[0098] Терміном «В-клітинний проліферативний розлад» позначаються розлади, які пов'язані з певною мірою аномальної проліферації В-клітин. В одному варіанті реалізації винаходу В-клітинний проліферативний розлад є злаякісною пухлиною.

[0099] «В-клітинний проліферативний розлад» включає хворобу Ходжкіна, зокрема хворобу Ходжкіна з лімфоцитарним переважанням (ХХЛП); неходжкінську лімфому (НХЛ); фолікулярні лімфоми центральних клітин (ФЦК); гострий лімфоцитарний лейкоз (ГЛЛ); хронічний лімфоцитарний лейкоз (ХЛЛ); волосатоклітинний лейкоз. Неходжкінська лімфома, зокрема, включає високодиференційовану/фолікулярну неходжкінську лімфому (НХЛ), мілкоклітинну НХЛ (МК-НХЛ); середньодиференційовану/фолікулярну НХЛ; середньодиференційовану дифузну НХЛ, низькодиференційовану імунобластну НХЛ, низькодиференційовану лімфобластну НХЛ, низькодиференційовану НХЛ малих клітин з нерозщепленим ядром, генералізовану НХЛ, плазмцитотічну лімфоцитарну лімфому, мантийноклітинну лімфому, пов'язану із СНІДом лімфому і макроглобулінемію Вальденстрема. Лікування рецидивів вказаних ракових захворювань також включене. ХХЛП є видом хвороби Ходжкіна, що має тенденцію до частих рецидивів, незважаючи на опромінення або хіміотерапію. ХЛЛ є одним з чотирьох основних типів лейкозу. Рак зрілих В-клітин під назвою лімфоцити, ХЛЛ, виявляється поступовим накопиченням клітин у крові, кістковому мозку і лімфатичних тканинах. Уповільнена лімфома є повільно прогресуючим, невиліковним захворюванням, при якому середня тривалість життя пацієнта становить від шести до 10 років після численних періодів ремісії і рецидивів.

[0100] Термін «неходжкінська лімфома» або «НХЛ» у цьому документі позначає рак лімфатичної системи, відмінний від ходжкінських лімфом. Ходжкінські лімфоми, як правило, можна відрізнити від неходжкінських лімфом за наявністю клітин Рід-Стернберга при ходжкінських лімфомах і відсутністю вказаних клітин при неходжкінських лімфомах. Приклади неходжкінських лімфом, включених у цей термін у цьому документі, включають будь-які, що можуть бути ідентифіковані як такі фахівцем в даній галузі техніки (наприклад, онкологом або патологоанатомом), відповідно до відомих з рівня техніки схем класифікації, таких як Виправлена європейсько-американська схема лімфоми (BEAL), описана у Color Atlas of Clinical Hematology, Third Edition; A. Victor Hoffbrand and John E. Pettit (eds.) (Harcourt Publishers Limited 2000) (див., зокрема Фіг. 11.57, 11.58 та/або 11.59). Більш конкретні приклади включають, але не обмежуються цим, рецидивуючу або рефрактерну НХЛ, граничну високодиференційовану НХЛ, НХЛ Стадії III/IV, резистентну до хіміотерапії НХЛ, лімфобластний лейкоз та/або лімфому прекурсорів В-клітин, мілкоклітинну лімфоцитарну лімфому, В-клітинний хронічний лімфоцитарний лейкоз та/або пролімфоцитарний лейкоз та/або мілкоклітинну лімфоцитарну лімфому, пролімфоцитарну лімфому В-клітин, імуноцитому та/або лімфоплазматичну лімфому, В-клітинну лімфому маргінальної зони, селезінкову лімфому маргінальної зони, позавузову лімфому маргінальної зони MALT, вузову лімфому маргінальної зони, волосатоклітинний лейкоз, плазмцитому та/або мієлому клітин плазми, високодиференційовану/фолікулярну лімфому, середньодиференційовану/фолікулярну НХЛ, мантийноклітинну лімфому, центральну фолікулярну лімфому, середньодиференційовану дифузну НХЛ, дифузну крупноклітинну В-клітинну лімфому, агресивну НХЛ (включаючи агресивну граничну НХЛ і агресивну рецидивуючу НХЛ), рецидивуючу після трансплантації або резистентну до трансплантації аутогенних стовбурних клітин НХЛ, первинну медіастинальну крупноклітинну В-клітинну лімфому, лімфому первинного випоту, низькодиференційовану імунобластну НХЛ, низькодиференційовану лімфобластну НХЛ, низькодиференційовану мілкоклітинну НХЛ з нерозщепленим ядром, генералізовану НХЛ, лімфому Беркітта, лімфобластний лейкоз та/або лімфому прекурсорів (периферичних) Т-клітин, лімфому та/або лейкоз дорослих Т-клітин, хронічний лімфоцитарний лейкоз та/або пролімфоцитарний лейкоз Т-

клітин, крупноклітинний гранулярний лімфоцитарний лейкоз, грибоподібний мікоз, та/або синдром Сезарі, позавузову лімфому природних кілерів/Т-клітин (назального типу), Т-клітинну лімфому за типом ентеропатії, печінково-селезінкову Т-клітинну лімфому, підшкірну целюліт-подібну Т-клітинну лімфому, лімфоми шкіри (шкірні), анапластичну крупноклітинну лімфому, ангіоцентричну лімфому, Т-клітинну лімфому кишківника, лімфому периферичних Т-клітин (інакше не ідентифіковану) та ангіоімунобластну Т-клітинну лімфому.

[0101] «Індивід» або «суб'єкт» є ссавцем. Ссавці включають, але не обмежуються цим, домашніх тварин (наприклад, корів, овець, кішок, собак і коней), приматів (наприклад, людей і приматів, таких як мавпи), кроликів і гризунів (наприклад, мишей і щурів). В деяких варіантах реалізації винаходу індивід або суб'єкт є людиною.

[0102] Термін «листок-вкладиш в упаковку» використовується для позначення інструкцій, що звичайно містяться у комерційних упаковках терапевтичних продуктів та містять інформацію щодо показань, застосування, дози, способів введення, комбінованої терапії, протипоказань та/або застережень, що стосуються застосування таких терапевтичних продуктів.

[0103] В цьому документі і в доданий формулі винаходу форми однини включають також множину, якщо з контексту явно не слідує інше.

[0104] Посилання на «близько» значення або параметру у цьому документі включає (і описує) варіації, що стосуються вказаного значення або параметру. Наприклад, посилання в описі на «близько Х» включає опис «Х».

[0105] Необхідно розуміти, що аспекти і варіанти реалізації винаходу, описані у цьому документі, включають аспекти і варіанти реалізації, що «складаються із» та/або «по суті складаються із».

II. КОМПОЗИЦІЇ І СПОСОБИ

[0106] У відповідності до одного аспекту винахід базується, зокрема, на анти-CD79b антитілах. У деяких варіантах реалізації винаходу запропоновані анти-CD79b антитіла, що містять CD79b-зв'язуючий домен і CD3-зв'язуючий домен. У деяких варіантах реалізації винаходу анти-CD79b антитіла є Т-клітиннозалежними біспецифічними анти-CD79b антитілами (ТЗБ). Антитіла за винаходом є придатними, наприклад, для діагностики або лікування проліферативних захворювань В-клітин.

A. Приклади анти-CD79b антитіл

[0107] В одному аспекті винаходу пропонуються виділені антитіла, які зв'язуються з CD79b. У деяких варіантах будь-якого із анти-CD79b антитіл, CD79b-зв'язуючий домен зв'язується із SEQ ID NO: 63.

[0108] У деяких варіантах будь-якого з анти-CD79b антитіл, анти-CD79b антитіло (наприклад, CD79b-зв'язуючий домен) зв'язується з CD79b людини із Kd менш ніж близько 25 нМ для двовалентного антитіла IgG з двома плечима. В деяких варіантах будь-якого з анти-CD79b антитіл, анти-CD79b антитіло (наприклад, CD79b-зв'язуючий домен) зв'язується з CD79b людини із Kd менш ніж близько 10 нМ. У деяких варіантах будь-якого з анти-CD79b антитіл, анти-CD79b антитіло (наприклад, CD79b-зв'язуючий домен) зв'язується з CD79b людини із Kd менш ніж близько 5 нМ. У деяких варіантах реалізації винаходу Kd визначають за будь-яким способом, описаним у цьому документі, зокрема, у прикладах. У деяких варіантах реалізації винаходу Kd визначають за методом BIACORE. У деяких варіантах реалізації винаходу Kd визначають за допомогою CD79b, іммобілізованого з низькою щільністю.

[0109] У деяких варіантах будь-якого із анти-CD79b антитіл, анти-CD79b антитіло (наприклад, CD79b-зв'язуючий домен) зв'язується з В-клітиною (наприклад, клітиною BJAB) із EC₅₀ менш ніж близько 150 нг/мл для двовалентного антитіла IgG з двома плечима. У деяких варіантах реалізації винаходу значення EC₅₀ становить менш ніж близько 100 нг/мл. У деяких варіантах реалізації винаходу значення EC₅₀ становить менш ніж близько 75 нг/мл. У деяких варіантах реалізації винаходу значення EC₅₀ становить менш ніж близько 50 нг/мл. У деяких варіантах реалізації винаходу значення EC₅₀ визначають за будь-яким способом, описаним в цьому документі, зокрема, в прикладах. У деяких варіантах реалізації винаходу значення EC₅₀ являє собою середнє значення для будь-якого із 5 або 10 експериментів. У деяких варіантах реалізації винаходу зв'язування із В-клітиною визначають за допомогою СКАФ.

[0110] У деяких варіантах будь-якого із анти-CD79b антитіл, анти-CD79b антитіло (наприклад, CD79b-зв'язуючий домен), яке зв'язується з CD79b людини, зв'язується з В-клітиною (наприклад, клітиною BJAB) із EC₅₀ менш ніж близько 1,5 мкг/мл для одновалентного формату (наприклад, біспецифічне анти-CD79b антитіло, що містить CD79b- і CD3-зв'язуючий домен). У деяких варіантах реалізації винаходу EC₅₀ становить менш ніж близько 1 мкг/мл. У деяких варіантах реалізації винаходу EC₅₀ становить менш ніж близько 0,75 мкг/мл. У деяких варіантах реалізації винаходу EC₅₀ становить менш ніж близько 0,5 мкг/мл. У деяких варіантах

реалізації винаходу EC_{50} становить менш ніж близько 0,25 мкг/мл. У деяких варіантах реалізації винаходу EC_{50} визначають за будь-яким способом, описаним у цьому документі, зокрема, у прикладах. У деяких варіантах реалізації винаходу EC_{50} являє собою середнє значення для будь-якого із 5 або 10 експериментів. У деяких варіантах реалізації винаходу зв'язування із В-клітиною визначають за допомогою СКАФ.

Антитіло CD79.A7 і його варіанти

[0111] В одному аспекті винаходу пропонується анти-CD79b антитіло, що містить CD79b-зв'язуючий домен, який містить щонайменше один, два, три, чотири, п'ять або шість HVR, вибрані з (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5; (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 8; (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9; (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10; (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11; і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12. У деяких варіантах реалізації винаходу HVR-H1 містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3. У деяких варіантах реалізації винаходу HVR-H1 містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4. У деяких варіантах реалізації винаходу HVR-H2 містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6. У деяких варіантах реалізації винаходу HVR-H2 містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7.

[0112] В одному аспекті винаходу пропонується анти-CD79b антитіло, що містить CD79b-зв'язуючий домен, який містить щонайменше одну, щонайменше дві або всі три послідовності VH HVR, вибрані з: (a) HVR-H1 що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5; (b) HVR-H2 що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 8; і (c) HVR-H3 що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9. У одному варіанті реалізації винаходу, антитіло містить HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9. В іншому варіанті реалізації винаходу антитіло містить HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9, і HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12. У подальшому варіанті реалізації винаходу антитіло містить HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9, HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12, і HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 8. В іншому варіанті реалізації винаходу антитіло містить (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5; (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 8; і (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9. У деяких варіантах реалізації винаходу HVR-H1 містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3. У деяких варіантах реалізації винаходу HVR-H1 містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4. У деяких варіантах реалізації винаходу HVR-H2 містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6. У деяких варіантах реалізації винаходу HVR-H2 містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7. В іншому варіанті реалізації винаходу антитіло містить (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3; (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6; і (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9. В іншому варіанті реалізації винаходу антитіло містить (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4; (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7; і (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9.

[0113] В іншому аспекті винаходу пропонується анти-CD79b антитіло, що містить CD79b-зв'язуючий домен, який містить щонайменше одну, щонайменше дві або щонайменше три послідовності VL HVR, вибрані з (a) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10; (b) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11; і (c) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12. У одному варіанті реалізації винаходу антитіло містить (a) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10; (b) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11; і (c) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12.

[0114] В іншому аспекті анти-CD79b антитіло за винаходом містить CD79b-зв'язуючий домен, який містить (a) домен VH, що містить щонайменше одну, щонайменше дві або всі три послідовності VH HVR, вибрані з (i) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5, (ii) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 8, і (iii) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність, вибрану із SEQ ID NO: 9; і (b) домен VL, що містить щонайменше одну, щонайменше дві або всі три послідовності VL HVR, вибрані з (i) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10, (ii) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11, і (c) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12. У деяких варіантах реалізації винаходу, HVR-H1 містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3. У деяких варіантах реалізації винаходу HVR-H1 містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4. У деяких варіантах реалізації винаходу HVR-H2 містить амінокислотну

послідовність SEQ ID NO: 6. У деяких варіантах реалізації винаходу, HVR-H2 містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7.

[0115] В іншому аспекті винаходу пропонується анти-CD79b антитіло, що містить CD79b-зв'язуючий домен, який містить (а) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5; (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 8; (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9; (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10; (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11; і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність, вибрану із SEQ ID NO: 12. В іншому аспекті винаходу пропонується анти-CD79b антитіло, що містить CD79b-зв'язуючий домен, який містить (а) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3; (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6; (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9; (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10; (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11; і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність, вибрану із SEQ ID NO: 12. В іншому аспекті винаходу пропонується анти-CD79b антитіло, що містить CD79b-зв'язуючий домен, який містить (а) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4; (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7; (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9; (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10; (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11; і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність, вибрану із SEQ ID NO: 12.

[0116] В будь-якому з вищеописаних варіантів реалізації винаходу анти-CD79b антитіло є гуманізованим. У одному з варіантів реалізації винаходу анти-CD79b антитіло містить HVR згідно будь-якого з вищеописаних варіантів реалізації винаходу, і додатково містить акцепторну каркасну ділянку людини, наприклад, каркас імуноглобуліну людини або консенсусний каркас людини.

[0117] В іншому аспекті анти-CD79b антитіло містить послідовність варіабельного домену важкого ланцюга (VH), яка володіє щонайменше 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% або 100% ідентичністю послідовності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27 та/або 29. У деяких варіантах реалізації винаходу послідовність VH, що володіє щонайменше 90%, 91%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% або 99% ідентичністю, містить заміни (наприклад, консервативні заміни), інсерції або делеції в порівнянні з еталонною послідовністю, причому анти-CD79b антитіло, що містить послідовність, зберігає здатність зв'язуватися з CD79b. У деяких варіантах реалізації винаходу амінокислоти загальною кількістю від 1 до 10, були замінені, вставлені та/або видалені з SEQ ID NO: 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27 та/або 29. У деяких варіантах реалізації винаходу заміни, інсерції або делеції здійснені в ділянках поза межами HVR (тобто, у FR). Анти-CD79b антитіло необов'язково містить послідовність VH, наведену у SEQ ID NO: 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27 та/або 29, включаючи посттрансляційні модифікації вказаної послідовності. В конкретному варіанті реалізації винаходу VH містить один, два або три HVR, вибрані з: (а) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5, (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 8, і (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9.

[0118] В іншому аспекті пропонується анти-CD79b антитіло, причому антитіло містить варіабельний домен легкого ланцюга (VL), який володіє щонайменше 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% або 100% ідентичністю послідовності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 та/або 30. У деяких варіантах реалізації винаходу послідовність VL, що володіє щонайменше 90%, 91%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% або 99% ідентичністю, містить заміни (наприклад, консервативні заміни), інсерції або делеції в порівнянні з референтною послідовністю, причому анти-CD79b антитіло, що містить послідовність, зберігає здатність зв'язуватися з CD79b. У деяких варіантах реалізації винаходу амінокислоти загальною кількістю від 1 до 10 були замінені, вставлені та/або видалені з SEQ ID NO: 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 та/або 30. У деяких варіантах заміни, інсерції або делеції здійснені в ділянках поза межами HVR (тобто, у FR). Анти-CD79b антитіло необов'язково містить послідовність VL, наведену у SEQ ID NO: 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 та/або 30, включаючи посттрансляційні модифікації вказаної послідовності. В конкретному варіанті реалізації винаходу VL містить один, два або три HVR, вибрані з (а) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10; (b) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11; і (c) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12.

[0119] В іншому аспекті пропонується анти-CD79b антитіло, причому антитіло містить VH, як в будь-якому з варіантів реалізації винаходу, наведених вище, і VL, як в будь-якому з варіантів реалізації винаходу, наведених вище. В одному варіанті реалізації винаходу антитіло містить

послідовності VH і VL, наведені у SEQ ID NO: 15 і SEQ ID NO: 16, відповідно, включаючи посттрансляційні модифікації вказаних послідовностей. У одному варіанті реалізації винаходу антитіло містить послідовності VH і VL, наведені у SEQ ID NO: 17 і SEQ ID NO: 18, відповідно, включаючи посттрансляційні модифікації вказаних послідовностей. У одному варіанті реалізації винаходу антитіло містить послідовності VH і VL, наведені у SEQ ID NO: 19 і SEQ ID NO: 20, відповідно, включаючи посттрансляційні модифікації вказаних послідовностей. У одному варіанті реалізації винаходу антитіло містить послідовності VH і VL, наведені у SEQ ID NO: 21 і SEQ ID NO: 22, відповідно, включаючи посттрансляційні модифікації вказаних послідовностей. У одному варіанті реалізації винаходу антитіло містить послідовності VH і VL, наведені у SEQ ID NO: 23 і SEQ ID NO: 24, відповідно, включаючи посттрансляційні модифікації вказаних послідовностей. У одному варіанті реалізації винаходу антитіло містить послідовності VH і VL, наведені у SEQ ID NO: 25 і SEQ ID NO: 26, відповідно, включаючи посттрансляційні модифікації вказаних послідовностей. У одному варіанті реалізації винаходу антитіло містить послідовності VH і VL, наведені у SEQ ID NO: 27 і SEQ ID NO: 28, відповідно, включаючи посттрансляційні модифікації вказаних послідовностей. У одному варіанті реалізації винаходу антитіло містить послідовності VH і VL, наведені у SEQ ID NO: 29 і SEQ ID NO: 30 відповідно, включаючи посттрансляційні модифікації вказаних послідовностей.

[0120] В іншому аспекті винаходу пропонується антитіло, яке зв'язується з тим же епітопом, що і запропоноване у цьому винаході анти-CD79b антитіло. Наприклад, у деяких варіантах реалізації винаходу антитіло, яке зв'язується з тим же епітопом, що і анти-CD79b антитіло, містить послідовність VH, наведену у SEQ ID NO: 19, і послідовність VL, наведену у SEQ ID NO: 20. У деяких варіантах реалізації винаходу пропонується антитіло, яке зв'язується з епітопом в межах фрагмента CD79b, що складається з амінокислот SEQ ID NO: 63.

[0121] У додатковому аспекті винаходу анти-CD79b антитіло відповідно до будь-якого з вищеописаних варіантів реалізації винаходу є моноклональним антитілом, зокрема химерним, гуманізованим або людським антитілом. В одному варіанті реалізації винаходу анти-CD79b антитіло є фрагментом антитіла, наприклад, Fv, Fab, Fab', scFv, діатіло або фрагмент F(ab')₂. В іншому варіанті реалізації винаходу антитіло є повнорозмірним антитілом, наприклад, інтактним антитілом IgG1 або іншого класу або ізо типу антитіл, описаних у цьому документі.

Антитіло SN8.new і його варіанти

[0122] В одному аспекті винаходу пропонується анти-CD79b антитіло, що містить CD79b-зв'язуючий домен, який містить щонайменше один, два, три, чотири, п'ять або шість HVR, вибраних з (а) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31; (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 32; (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 33; (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 34; (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35, і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36.

[0123] В одному аспекті винаходу пропонується анти-CD79b антитіло, що містить CD79b-зв'язуючий домен, який містить щонайменше одну, щонайменше дві або всі три послідовності VH HVR, вибрані з (а) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31; (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 32; і (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 33. В одному з варіантів реалізації винаходу антитіло містить HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 33. В іншому варіанті реалізації винаходу антитіло містить HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 33 і HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36. В іншому варіанті реалізації винаходу антитіло містить HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 33, HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36 і HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 32. В іншому варіанті реалізації винаходу антитіло містить (а) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31; (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 32; і (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 33.

[0124] В іншому аспекті винаходу пропонується анти-CD79b антитіло, що містить CD79b-зв'язуючий домен, який містить щонайменше одну, щонайменше дві або всі три послідовності VL HVR, вибрані з (а) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 34; (b) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35, і (c) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36. У одному варіанті реалізації винаходу антитіло містить (а) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 34; (b) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35, і (c) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36.

[0125] В іншому аспекті анти-CD79b антитіло за винаходом містить CD79b-зв'язуючий домен, що містить (a) VH-домен, який містить щонайменше одну, щонайменше дві або всі три послідовності, вибрані з VH HVR (i) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31, (ii) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 32, і (iii) HVR-H3, що

5 містить амінокислотну послідовність, вибрану із SEQ ID NO: 33; і (b) VL-домен, що містить щонайменше одну, щонайменше дві або всі три послідовності VL HVR, вибрані з (i) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 34, (ii) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35, і (c) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36.

10 [0126] В іншому аспекті винаходу пропонується анти-CD79b антитіло, що містить CD79b-зв'язуючий домен, який містить (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31; (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 32; (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 33; (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 34; (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35, і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність, вибрану із SEQ ID NO: 36.

15 [0127] В будь-якому з вищеописаних варіантів реалізації винаходу анти-CD79b антитіло є гуманізованим. У одному з варіантів реалізації винаходу анти-CD79b антитіло містить HVR згідно будь-якого з вищеописаних варіантів реалізації винаходу, і додатково містить акцепторну каркасну ділянку людини, наприклад, каркас імуноглобуліну людини або консенсусний каркас людини.

20 [0128] В іншому аспекті анти-CD79b антитіло містить послідовність варіабельного домену важкого ланцюга (VH), яка володіє щонайменше 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% або 100% ідентичністю послідовності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 37. У деяких варіантах реалізації винаходу послідовність VH, яка володіє щонайменше 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% або 99% ідентичністю, містить заміни (наприклад, консервативні заміни), інсерції або делеції в порівнянні з еталонною послідовністю, причому

25 анти-CD79b антитіло, що містить послідовність, зберігає здатність до зв'язування з CD79b. У деяких варіантах реалізації винаходу амінокислоти загальною кількістю від 1 до 10 були замінені, вставлені та/або видалені з SEQ ID NO: 37. У деяких варіантах реалізації винаходу заміни, інсерції або делеції здійснені в ділянках поза межами HVR (тобто, у FR). Анти-CD79b антитіло необов'язково містить послідовність VH, наведену у SEQ ID NO: 37, включаючи посттрансляційні модифікації вказаної послідовності. У конкретному варіанті реалізації винаходу VH містить один, два або три HVR, вибрані з: (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31, (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 32, і (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 33.

30 [0129] В іншому аспекті пропонується анти-CD79b антитіло, що містить варіабельний домен легкого ланцюга (VL), який володіє щонайменше 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% або 100% ідентичністю послідовності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 38. У деяких варіантах реалізації винаходу послідовність VL, що володіє щонайменше 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% або 99% ідентичністю, містить заміни (наприклад, консервативні заміни), інсерції або делеції в порівнянні з еталонною послідовністю, причому анти-CD79b антитіло, що містить послідовність, зберігає здатність до зв'язування з CD79b. У деяких варіантах реалізації винаходу амінокислоти загальною кількістю від 1 до 10 були замінені, вставлені та/або видалені із SEQ ID NO: 38. У деяких варіантах реалізації винаходу заміни, інсерції або делеції здійснені в ділянках поза межами HVR (тобто, у FR). Анти-CD79b антитіло необов'язково містить послідовність VL, наведену у SEQ ID NO: 38, включаючи посттрансляційні модифікації цієї послідовності. У конкретному варіанті реалізації винаходу VL містить один, два або три HVR, вибраних з (a) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 34; (b) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35, і (c) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36.

35 [0130] В іншому аспекті пропонується анти-CD79b антитіло, що містить VH, описаний в будь-якому з варіантів реалізації винаходу, наведених вище, і VL, описаний в будь-якому з варіантів реалізації винаходу, наведених вище. У одному варіанті реалізації винаходу антитіло містить послідовності VH і VL, наведені у SEQ ID NO: 37 і SEQ ID NO: 38, відповідно, включаючи посттрансляційні модифікації вказаних послідовностей.

40 [0131] Згідно іншого аспекту винаходу, анти-CD79b антитіло відповідно до будь-якого з вищеописаних варіантів реалізації винаходу, є моноклональним антитілом, зокрема химерним, гуманізованим або людським антитілом. У одному варіанті анти-CD79b антитіло є фрагментом антитіла, наприклад, Fv, Fab, Fab', scFv, діатіло або фрагмент F(ab')₂. В іншому варіанті

реалізації винаходу антитіло є повнорозмірним антитілом, наприклад, інтактним антитілом IgG1 або іншого класу або ізотипу антитіл, описаного в цьому документі.

[0132] У додатковому аспекті анти-CD79b антитіла відповідно до будь-якого з вищеописаних варіантів реалізації винаходу, можуть володіти будь-якою з ознак, описаних у Розділах 1-7 нижче, окремо або в комбінації:

1. Афіність антитіл

[0133] У деяких варіантах реалізації винаходу константа дисоціації антитіла, запропонованого у цьому винаході, становить (K_d) ≤ 1 мкМ, ≤ 100 нМ, ≤ 10 нМ, ≤ 1 нМ, $\leq 0,1$ нМ, $\leq 0,01$ нМ або $\leq 0,001$ нМ (наприклад, 10^{-8} М або менше, наприклад, від 10^{-8} М до 10^{-13} М, наприклад, від 10^{-9} М до 10^{-13} М).

[0134] В одному варіанті реалізації винаходу K_d вимірюють за допомогою аналізу зв'язування радіоактивно міченого антигену (PIA). В одному варіанті реалізації винаходу PIA здійснюють з версією Fab цільового антитіла і його антигеном. Наприклад, афіність зв'язування Fab для антигену вимірюють у розчині шляхом урівноваження Fab з мінімальною концентрацією (125 I)-міченого антигену в присутності титраційної серії неміченого антигену, з подальшим захопленням зв'язаного антигену на планшеті, вкритому анти-Fab антитілом (див., наприклад, Chen et al., J Mol. Biol. 293: (1999) 865-881). Для встановлення умов аналізу, багатолункові планшети MICROTITER® (Thermo Scientific) вкривають протягом ночі 5 мкг/мл блокуючого анти-Fab антитіла (Cappel Labs) в 50 мМ натрій карбонату (pH 9,6), і потім блокують 2% (мас./об.) бичачим сироватковим альбуміном у ФСБ протягом від двох до п'яти годин при кімнатній температурі (близько 23°C). На неадсорбуючому планшеті (Nunc, № 269620), 100 пМ або 26 пМ [125 I]-антигену змішують із серіями розведень цільового Fab (наприклад, відповідно до оцінки анти-VEGF антитіла, Fab-12, у Presta et al., Cancer Res. 57:4593-4599 (1997)). Далі цільовий Fab інкубують протягом ночі; однак інкубація може тривати і більший період часу (наприклад, близько 65 годин), щоб гарантувати досягнення рівноваги. Після цього суміші переносять на планшети для блокування та інкубують при кімнатній температурі (наприклад, протягом однієї години). Далі розчин видаляють, і планшети промивають вісім разів 0,1% розчином полісорбату 20 (TWEEN-20®) у ФСБ. Після висихання планшетів додають 150 мкл/лунку сцинтилятора (MICROSCINT-20™; Packard), і планшети зчитують на гамма-лічильнику TOPCOUNT™ (Packard) протягом десяти хвилин. Концентрації кожного Fab, які дають значення менше або рівне 20% максимального зв'язування, відбирають для застосування в аналізах конкурентного зв'язування.

[0135] У відповідності до іншого варіанту реалізації винаходу, K_d вимірюють із застосуванням методу поверхневого плазмонного резонансу BIACORE®. Наприклад, аналіз BIACORE®-2000 або BIACORE®-3000 (Biacore, Inc., Піскатауей, Нью-Джерсі) проводять при температурі 25°C з мікрочіпами CM5, що містять іммобілізований антиген, при ~10 одиниць відповіді (ОВ). В одному варіанті реалізації винаходу біосенсорні чипи з карбоксиметильованим декстраном (CM5, BIACORE, Inc) активують N-етил-N'-(3-диметиламінопропіл)-карбодііміду гідроксидом (ЕДК) і N-гідроксисукцинімідом (NHS) відповідно до інструкцій постачальника. Антиген розбавляють 10 мМ розчином натрій ацетату, pH 4,8, до 5 мкг/мл (~0,2 мкМ) перед інжекцією при швидкості потоку 5 мкл/хв до досягнення сигналу близько 10 одиниць відповіді (ОВ) зв'язаного білка. Після інжекції антигену вводять 1 М етаноламіну для блокування груп, які не прореагували. Для кінетичних вимірювань здійснюють інжекцію дворазових серійних розведень Fab (від 0,78 нМ до 500 нМ) у ФСБ, що містить 0,05% поверхнево-активної речовини полісорбату 20 (TWEEN-20™) (ФСБТ) при 25°C і швидкості потоку близько 25 мкл/хв. Значення швидкості асоціації (kon) і швидкості дисоціації (koff) обчислюють із застосуванням простої моделі зв'язування Ленгмюра із співвідношенням 1:1 (програмне забезпечення для оцінки BIACORE®, версія 3.2) шляхом одночасної апроксимації сенсограм асоціації і дисоціації. Рівноважну константу дисоціації (K_d) обчислюють як співвідношення koff/kon. Див., наприклад, Chen et al., J. Mol. Biol. 293:865-881 (1999). Якщо швидкість асоціації перевищує 106 М-1 с-1 у вищезгаданому методі поверхневого плазмонного резонансу, то швидкість асоціації можна визначати із застосуванням методу гасіння флуоресценції, в якому вимірюють підвищення або зниження інтенсивності флуоресцентного випромінювання (збудження = 295 нм; випромінювання = 340 нм, смуга пропускання 16 нм) при 25°C для 20 нМ антитіла проти антигену (форма Fab) у ФСБ, pH 7,2, в присутності зростаючих концентрацій антигену, за даними вимірювання за допомогою спектрофотометра, наприклад, обладнаного пристроєм для зупинки потоку (Aviv Instruments), або спектрофотометра SLM-AMINCO™ серії 8000 (ThermoSpectronic) і кювети із перемішуванням.

2. Фрагменти антитіл

[0136] У деяких варіантах реалізації винаходу запропоноване в цьому документі антитіло є фрагментом антитіла. Фрагменти антитіл включають, але не обмежуючись цим, фрагменти Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv і scFv та інші фрагменти, описані нижче. Огляд деяких фрагментів антитіл див. у Hudson et al. Nat. Med. 9:129-134 (2003). Огляд фрагментів scFv див., наприклад, у Pluckthün, in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York), pp. 269-315 (1994); див. також WO 93/16185; і патенти США № 5571894 і 5587458. Обговорення фрагментів Fab і F(ab')₂, що містять залишки епітопу зв'язування з рецептором реутилізації і володіють збільшеним періодом напіввиведення in vivo, див. у патенті США 5869046.

[0137] Діатіла являють собою фрагменти антитіл з двома антиген-зв'язуючими сайтами, які можуть бути двовалентними або біспецифічними. Див., наприклад, EP 404097; WO 1993/01161; Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003); і Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 (1993). Триатіла і тетратіла додатково описані у Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003).

[0138] Однодоменні антитіла являють собою фрагменти антитіл, що містять весь або частину варіабельного домену важкого ланцюга або весь або частину варіабельного домену легкого ланцюга антитіла. У деяких варіантах реалізації винаходу однодоменне антитіло є людським однодоменним антитілом (Domantis, Inc., Уолтхем, Масачусетс; див., наприклад, патент США № 6248516).

[0139] Фрагменти антитіл можуть бути одержані за допомогою різних методик, зокрема, але не обмежуючись цим, протеолітичним розщепленням інтактного антитіла, а також шляхом одержання рекомбінантної клітини-хазяїна (наприклад, E. coli або фагу), описаної в цьому документі.

3. Химерні і гуманізовані антитіла

[0140] У деяких варіантах реалізації винаходу запропоноване у цьому винаході антитіло є химерним антитілом. Деякі химерні антитіла описані, наприклад, у патенті США № 4816567; і Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984)). В одному прикладі, химерне антитіло містить нелюдську варіабельну ділянку (наприклад, варіабельну ділянку, одержану від миші, щура, хом'яка, кролика або приматів, таких як мавпа) і людську константну ділянку. В іншому прикладі химерне антитіло є «клас-світч» антитілом, клас або підклас якого був модифікований в порівнянні з батьківським антитілом. Химерні антитіла включають антигензв'язуючі фрагменти химерних антитіл.

[0141] У деяких варіантах реалізації винаходу химерне антитіло є гуманізованим антитілом. Як правило, нелюдське антитіло гуманізують для зниження імуногенності у людей при збереженні специфічності і афінності батьківського нелюдського антитіла. Як правило, гуманізоване антитіло містить один або більше варіабельних доменів, у яких, наприклад, HVR CDR (або їх частини) одержані з нелюдського антитіла, а FR (або його частина) є послідовністю, одержаною з людського антитіла. Гуманізоване антитіло необов'язково міститиме щонайменше частину константної ділянки людини. У деяких варіантах реалізації даного винаходу деякі залишки FR в гуманізованому антитілі замінені відповідними залишками нелюдського антитіла (наприклад, антитіла, з якого одержані залишки HVR), наприклад, для відновлення або покращення специфічності або афінності антитіла.

[0142] Гуманізовані антитіла і способи їх одержання описані, наприклад, в Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008), і додатково описані, наприклад, у Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988); Queen et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 86:10029-10033 (1989); патентах США №№ 5821337, 7527791, 6982321 и 7087409; Kashmiri et al., Methods 36:25-34 (2005) (описана пересадка ділянки, що визначає специфічність (OCY)); Padlan, Mol. Immunol. 28:489-498 (1991) (описана «перекладка варіабельного домену»); Dall'Acqua et al., Methods 36:43-60 (2005) (описана «перетасовка FR»); і Osbourn et al., Methods 36:61-68 (2005) і Klimka et al., Br. J. Cancer, 83:252-260 (2000) (описаний підхід «керованого вибору» до перетасування FR).

[0143] Каркасні ділянки людини, які можуть бути застосовані для гуманізації, включають, але не обмежуючись цим: каркасні ділянки, відібрані із застосуванням методу «якнайкращої відповідності» (див., наприклад, Sims et al. J. Immunol. 151: 2296 (1993)); каркасні ділянки, одержані з консенсусної послідовності конкретної підгрупи варіабельних ділянок легких або важких ланцюгів антитіл людини (див., наприклад, Carter et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89: 4285 (1992); і Presta et al. J. Immunol., 151: 2623 (1993)); зрілі каркасні ділянки людини (що містять соматичні мутації) або каркасні ділянки зародкової лінії людини (див., наприклад, Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13: 1619-1633 (2008)); і каркасні ділянки, одержані в результаті FR скринінгу бібліотек (див., наприклад, Vasa et al., J. Biol. Chem. 272: 10678-10684 (1997), і Rosok et al., J. Biol. Chem. 271: 22611-22618 (1996)).

4. Людські антитіла

[0144] У деяких варіантах реалізації винаходу запропоноване у цьому винаході антитіло є людським антитілом. Людські антитіла можуть бути одержані із застосуванням різних методик, відомих в даній галузі техніки. Людські антитіла в цілому описані у van Dijk and van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol. 5: 368-74 (2001), і Lonberg, Curr. Opin. Immunol. 20: 450-459 (2008).

[0145] Людські антитіла можуть бути одержані шляхом введення імуногену в організм трансгенних тварин, який був модифікований для одержання інтактних людських антитіл або інтактних антитіл з людськими варіабельними ділянками у відповідь на антигенний стимул. Такі тварини звичайно несуть всі або частину локусів імуноглобуліну людини, що заміщають ендogenousні локуси імуноглобуліну або які локалізовані поза межами хромосом або інтегровані довільно у хромосоми тварини. У таких трансгенних мишей ендogenousні локуси імуноглобуліну в цілому є інактивованими. Огляд методів одержання людських антитіл від трансгенних тварин, див. у Lonberg, Nat. Biotech. 23:1117-1125 (2005). Додатково див., наприклад, патенти США №№ 6075181 і 6150584, в яких описана технологія XENOMOUSE™; патент США № 5770429, в якому описана технологія HuMab®; патент США № 7041870, в якому описана технологія K-M MOUSE®, і публікацію патентної заявки США № US 2007/0061900, в якій описана технологія VelociMouse®). Людські варіабельні ділянки з інтактних антитіл, що генеруються такими тваринами, можуть бути додатково модифіковані, наприклад, шляхом об'єднання з іншою людською константною ділянкою.

[0146] Додатково, людські антитіла можуть бути одержані із застосуванням методів на основі гібридом. Описані клітинні лінії мієломи людини і гетеромієломи миші-людини для продукування моноклональних антитіл людини. (Див., наприклад, Kozbor J. Immunol., 133: 3001 (1984); Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); і Boerner et al., J. Immunol., 147: 86 (1991). Крім того, людські антитіла, що генеруються за допомогою технології гібридами В-клітин людини, описані у Li et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:3557-3562 (2006). Додаткові способи включають способи, описані, наприклад, у патенті США № 7189826 (в якому описане продукування моноклональних антитіл IgM людини клітинними лініями гібридами) і Ni, Xiandai Mianyixue, 26(4):265-268 (2006) (описані гібридами людини-людини). Технологія гібридом людини (Trioma technology) додатково описана у Vollmers and Brandlein, Histology and Histopathology, 20(3):927-937 (2005), і Vollmers and Brandlein, Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology, 27(3):185-91 (2005).

[0147] Додатково, людські антитіла можна генерувати шляхом виділення послідовності варіабельного домену клону Fv, вибраної з бібліотек фагового дисплею, одержаних від людини. Такі послідовності варіабельного домену в подальшому можуть бути об'єднані з бажаним константним доменом людини. Способи вибору людських антитіл з бібліотек антитіл описані нижче.

5. Одержані з бібліотеки антитіла

[0148] Антитіла за даним винаходом можуть бути виділені шляхом скринінгу комбінаторних бібліотек щодо антитіл з бажаною активністю або видами активності. Наприклад, у цій галузі техніки відомі різні способи створення бібліотек фагового дисплею і скринінгу таких бібліотек щодо антитіл, які володіють бажаними характеристиками зв'язування. Такі способи описані, наприклад, у Hoogenboom et al. in Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001) і додатково описані, наприклад, у McCafferty et al., Nature 348:552-554; Clackson et al., Nature 352: 624-628 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol. 222: 581-597 (1992); Marks and Bradbury, in Methods in Molecular Biology 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu et al., J. Mol. Biol. 338(2): 299-310 (2004); Lee et al., J. Mol. Biol. 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101(34): 12467-12472 (2004); і Lee et al., J. Immunol. Methods 284(1-2): 119-132(2004).

[0149] У деяких способах фагового дисплею репертуари генів VH і VL клонують окремо за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) і рекомбінують випадковим чином у фагових бібліотеках, які потім можуть бути піддані скринінгу щодо антигензв'язуючого фагу, як описано у Winter et al., Ann. Rev. Immunol., 12: 433-455 (1994). Фаг звичайно показує фрагменти антитіл, у вигляді одноланцюгових Fv (scFv), Fab-фрагментів або фрагментів. Бібліотеки з імунізованих джерел забезпечують високоафінні антитіла до імуногену без необхідності конструювання гібридом. В якості альтернативи, може бути клонований «наївний» репертуар (наприклад, від людини), щоб забезпечити одне джерело антитіл до широкого діапазону чужорідних, а також аутоантигенів, без будь-якої імунізації, як описано у Griffiths et al., EMBO J, 12: 725-734 (1993). Нарешті, наївні бібліотеки можуть бути одержані синтетичним способом, шляхом клонування ланцюга сегментів V-гена із стовбурних клітин та із застосуванням ПЛР-праймерів, що містять випадкові послідовності, з метою кодування високо варіабельних ділянок CDR3 і для

перегрупування *in vitro*, як описано у Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227: 381-388 (1992). Патентні публікації, що описують фагові бібліотеки антитіл людини, включають, наприклад: патент США № 5750373 і патентні публікації США № 2005/0079574, 2005/0119455, 2005/0266000, 2007/0117126, 2007/0160598, 2007/0237764, 2007/0292936 і 2009/0002360.

5 [0150] Антитіла або фрагменти антитіл, виділені з бібліотек антитіл людини, у цьому винаході вважаються людськими антитілами або фрагментами людських антитіл.

6. Поліспецифічні антитіла

10 [0151] У деяких варіантах реалізації винаходу запропоноване антитіло є поліспецифічним антитілом, наприклад, біспецифічним антитілом. Поліспецифічні антитіла являють собою моноклональні антитіла, що володіють специфічністю зв'язування у відношенні щонайменше двох різних ділянок. У деяких варіантах реалізації винаходу одна із специфічних ділянок зв'язування являє собою CD79b, а інша являє собою будь-який інший антиген. У деяких варіантах реалізації винаходу біспецифічні антитіла можуть зв'язуватися із двома різними епітопами CD79b. Крім того, біспецифічні антитіла можуть бути застосовані для локалізації

15 цитотоксичних агентів в клітинах, які експресують CD79b. Біспецифічні антитіла можуть бути одержані у вигляді повнорозмірних антитіл або фрагментів антитіл.

[0152] В одному аспекті винаходу пропонуються виділені анти-CD79b антитіла, що зв'язуються з CD79b і CD3 (тобто, які містять CD79b-зв'язуючий домен і CD3-зв'язуючий домен). У деяких варіантах реалізації винаходу одна із ділянок специфічного зв'язування позначає CD3 (наприклад, CD3ε або CD3γ), а інша являє собою CD79b. У деяких варіантах реалізації винаходу CD3-зв'язуючий домен зв'язується із поліпептидом CD3 людини або поліпептидом CD3 яванського макака (супо). У деяких варіантах реалізації винаходу поліпептид CD3 людини або поліпептид CD3 яванського макака є поліпептидом CD3ε людини або поліпептидом CD3ε яванського макака, відповідно. У деяких варіантах реалізації винаходу поліпептид CD3 людини або поліпептид CD3 яванського макака є поліпептидом CD3γ людини або поліпептидом CD3γ яванського макака, відповідно. У деяких варіантах реалізації винаходу анти-CD79b антитіло містить CD3-зв'язуючий домен, який зв'язується з епітопом у межах фрагменту CD3 (наприклад, CD3ε людини), що складається з амінокислот 1-26 або 1-27 CD3ε людини. У деяких варіантах реалізації винаходу анти-CD79b антитіло є біспецифічним антитілом. У деяких варіантах

20 реалізації винаходу анти-CD79b антитіло є біспецифічним антитілом IgG.

[0153] У деяких варіантах реалізації винаходу CD3-зв'язуючий домен зв'язується з поліпептидом CD3ε людини із Kd 250 нМ або менше. У деяких варіантах реалізації винаходу CD3-зв'язуючий домен зв'язується з поліпептидом CD3ε людини із Kd 100 нМ або менше. У деяких варіантах реалізації винаходу CD3-зв'язуючий домен зв'язується з поліпептидом CD3ε людини із Kd 15 нМ або менше. У деяких варіантах реалізації винаходу CD3-зв'язуючий домен зв'язується з поліпептидом CD3ε людини із Kd 10 нМ або менше. У деяких варіантах реалізації винаходу CD3-зв'язуючий домен зв'язується з поліпептидом CD3ε людини із Kd 5 нМ або менше.

35

[0154] У деяких варіантах будь-якого з вказаних поліспецифічних антитіл, наприклад, біспецифічне антитіло, яке зв'язується з CD79b і CD3, містить CD3-зв'язуючий домен, причому CD3-зв'язуючий домен містить гіперваріабельні ділянки (HVR) (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 40; (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 41; (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 42; (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 43; і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 44. У деяких варіантах реалізації винаходу CD3-зв'язуючий домен містить (a) VH-домен, який містить: (i) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39, (ii) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 40, і (iii) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність, вибрану із SEQ ID NO: 41; і (b) VL-домен, який містить (i) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 42, (ii) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 43, (iii) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 44. У деяких випадках, CD3-зв'язуючий домен може містити варіабельний домен важкого ланцюга (VH), який містить амінокислотну послідовність, що володіє щонайменше 90% ідентичністю послідовності з послідовністю (наприклад, щонайменше 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% або 99% ідентичністю з послідовністю) або що безпосередньо має послідовність SEQ ID NO: 57, та/або варіабельний домен легкого ланцюга (VL), який містить амінокислотну послідовність, що володіє щонайменше 90% ідентичністю з послідовністю (наприклад, щонайменше 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% або 99% ідентичністю з послідовністю) або що безпосередньо має послідовність SEQ ID NO: 58. В деяких випадках CD3-зв'язуючий домен може містити VH-домен, що містить амінокислотну

40

45

50

55

60

послідовність SEQ ID NO: 57, і VL-домен, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 58. У конкретному випадку, CD3-зв'язуючий домен може являти собою 40G5c або його похідне або споріднений клон.

[0155] Наприклад, у деяких варіантах реалізації винаходу анти-CD79b антитіло містить (i) CD79b-зв'язуючий домен, який містить HVR (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4; (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7; (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9; (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10; (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11; і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12, і (ii) CD3-зв'язуючий домен, який містить HVR (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 40; (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 41; (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 42; (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 43; і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 44. В деяких варіантах реалізації винаходу анти-CD79b антитіло містить (i) CD79b-зв'язуючий домен, який містить (a) VH-домен, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 19 і (b) VL-домен, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 20, і (ii) CD3-зв'язуючий домен, який містить (a) VH-домен, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 57 і (b) VL-домен, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 58.

[0156] У деяких варіантах будь-якого із вказаних поліспецифічних антитіл, наприклад, біспецифічного антитіла, яке зв'язується з CD79b і CD3, CD3-зв'язуючий домен містить (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 45; (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 46; (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 47; (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 48; (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 49; і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 50. У деяких варіантах реалізації винаходу CD3-зв'язуючий домен містить (a) VH-домен, який містить i) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 45, (ii) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 46, і (iii) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність, вибрану із SEQ ID NO: 47; і (b) VL-домен, який містить (i) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 48 (ii) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 49 і (iii) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 50. У деяких випадках, CD3-зв'язуючий домен може містити VH-домен, який містить амінокислотну послідовність, що володіє щонайменше 90% ідентичністю з послідовністю (наприклад щонайменше 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% або 99% ідентичністю з послідовністю) або що безпосередньо має послідовність SEQ ID NO: 59, та/або VL-домен, який містить амінокислотну послідовність, що володіє щонайменше 90% ідентичністю з послідовністю (наприклад, щонайменше, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% або 99% ідентичністю з послідовністю) або що безпосередньо має послідовність SEQ ID NO: 60. У деяких випадках CD3-зв'язуючий домен може містити VH-домен, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 59, і VL-домен, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 60. У конкретному випадку CD3-зв'язуючий домен може являти собою 38E4v1 або його похідне, або споріднений клон.

[0157] Наприклад, у деяких варіантах реалізації винаходу анти-CD79b антитіло містить (i) CD79b-зв'язуючий домен, який містить HVR (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4; (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7; (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9; (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10; (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11; і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12, і (ii) CD3-зв'язуючий домен, який містить HVR (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 45; (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 46; (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 47; (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 48; (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 49; і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 50. У деяких варіантах реалізації винаходу анти-CD79b антитіло містить (i) CD79b-зв'язуючий домен, який містить (a) VH-домен, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 19, і (b) VL-домен, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 20, і (ii) CD3-зв'язуючий домен, який містить (a) VH-домен, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 59, і (b) VL-домен, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 60.

[0158] У деяких варіантах будь-якого із вказаних поліспецифічних антитіл, наприклад, біспецифічного антитіла, яке зв'язується з CD79b і CD3, CD3-зв'язуючий домен містить (a) HVR-

H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 51; (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 52; (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 53; (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 54; (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55; і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 56. У деяких варіантах реалізації винаходу CD3-зв'язуючий домен містить (a) VH-домен, який містить (i) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 51, (ii) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 52 і (iii) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність, вибрану із SEQ ID NO: 53; і (b) VL-домен, який містить (i) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 54 (ii) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55, (iii) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 56. У деяких випадках анти-CD3 антитіло може містити VH-домен, який містить амінокислотну послідовність, що володіє щонайменше 90% ідентичністю з послідовністю (наприклад, щонайменше 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% або 99% ідентичністю з послідовністю) або що безпосередньо має послідовність SEQ ID NO: 61, та/або VL-домен, який містить амінокислотну послідовність, що володіє щонайменше 90% ідентичністю з послідовністю (наприклад, щонайменше 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% або 99% ідентичністю з послідовністю) або що безпосередньо має послідовність SEQ ID NO: 62. У деяких випадках, CD3-зв'язуючий домен може містити VH-домен, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 61, і VL-домен, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 62. В конкретному випадку анти-CD3 антитіло може бути UCHT1.v9 або його похідним, або спорідненим клоном.

[0159] Наприклад, у деяких варіантах реалізації винаходу анти-CD79b антитіло містить (i) CD79b-зв'язуючий домен, який містить HVR (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4; (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7; (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9; (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10; (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11; і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12, і (ii) CD3-зв'язуючий домен, який містить HVR (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 51; (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 52; (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 53; (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 54; (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55; і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 56. У деяких варіантах реалізації винаходу анти-CD79b антитіло містить (i) CD79b-зв'язуючий домен, який містить (a) VH-домен, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 19, і (b) VL-домен, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 20, і (ii) CD3-зв'язуючий домен, який містить (a) VH-домен, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 61, і (b) VL-домен, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 62.

[0160] У деяких варіантах будь-якого із поліспецифічних анти-CD79b антитіл, анти-CD79b антитіло спричиняє загибель В-клітин з EC_{50} менш ніж близько 100 нг/мл. У деяких варіантах реалізації винаходу EC_{50} становить менш ніж близько 50 нг/мл. У деяких варіантах реалізації винаходу EC_{50} становить менш ніж близько 25 нг/мл. У деяких варіантах реалізації винаходу EC_{50} становить менш ніж близько 20 нг/мл. У деяких варіантах реалізації винаходу EC_{50} становить менш ніж близько 15 нг/мл. У деяких варіантах реалізації винаходу загибель В-клітин є загибеллю ендогенних В-клітин. У деяких варіантах реалізації винаходу загибель В-клітин є загибеллю клітинної лінії В-клітин, наприклад, клітинної лінії BJAB, клітинної лінії WSU-CLCL2, клітинної лінії OCI-Ly-19. У деяких варіантах реалізації винаходу EC_{50} визначають за будь-яким способом, описаним у цьому документі, зокрема, у прикладах. У деяких варіантах реалізації винаходу EC_{50} являє собою середнє значення для будь-якого із 5 або 10 експериментів. У деяких варіантах реалізації винаходу EC_{50} являє собою середнє значення для будь-якого із 5 або 10 донорів.

[0161] У деяких варіантах будь-якого із поліспецифічних анти-CD79b антитіл, анти-CD79b антитіло в концентрації 5000 нг/мл спричиняє загибель щонайменше близько 60% В-клітин. У деяких варіантах реалізації винаходу анти-CD79b антитіло в концентрації 5000 нг/мл спричиняє загибель щонайменше близько 80% В-клітин. Анти-CD79b антитіло в концентрації 5000 нг/мл спричиняє загибель щонайменше близько 90% В-клітин. Наприклад, у деяких варіантах реалізації винаходу В-клітини відносяться до однієї або більше В-клітинних ліній SU-CHL-6, CoHN2, BJAB, WSU-DLCL2, Sc-1, SU-CHL-8, GRANTA-519, Nalm-6, Ramos та/або OCI-Ly-19. У деяких варіантах реалізації винаходу EC_{50} визначають за будь-яким способом, описаним у цьому документі, зокрема, у прикладах. У деяких варіантах реалізації винаходу EC_{50} являє

собою середнє значення будь-якого із 5 або 10 експериментів. У деяких варіантах реалізації винаходу ЕС₅₀ являє собою середнє значення для будь-якого із 5 або 10 донорів.

[0162] У деяких варіантах будь-якого із поліспецифічних анти-CD79b антитіл, анти-CD79b антитіло демонструє ЕС₅₀ активації цитотоксичних Т-клітин менш ніж близько будь-якого із 50 нг/мл. У деяких варіантах реалізації винаходу анти-CD79b антитіло демонструє ЕС₅₀ активації цитотоксичних Т-клітин менш ніж близько 25 нг/мл. У деяких варіантах реалізації винаходу анти-CD79b антитіло демонструє ЕС₅₀ активації цитотоксичних Т-клітин менш ніж близько 20 нг/мл. В деяких варіантах активацію цитотоксичних Т-клітин вимірюють за допомогою % CD69+ CD25+ Т-клітин в числі CD8+ Т-клітин. У деяких варіантах реалізації винаходу ЕС₅₀ визначають за будь-яким способом, описаним у цьому документі, зокрема, у прикладах. У деяких варіантах реалізації винаходу ЕС₅₀ являє собою середнє значення будь-якого із 5 або 10 експериментів. У деяких варіантах реалізації винаходу ЕС₅₀ являє собою середнє значення будь-якого із 5 або 10 донорів.

[0163] Способи одержання поліспецифічних антитіл включають, але не обмежуючись цим, рекомбінантну коекспресію двох пар важкого ланцюга-легкого ланцюга імуноглобуліну з різною специфічністю (див. Milstein and Cuello, Nature 305: 537 (1983)), WO 93/08829, і Traunecker et al., EMBO J. 10: 3655 (1991)) і конструювання «виступу-у-порожнині» (див., наприклад, патент США № 5731168). Крім того, поліспецифічні антитіла можуть бути одержані шляхом конструювання ефектів електростатичного наведення для одержання Fc-гетеродимерних молекул антитіл (WO 2009/089004A1); поперечного зшивання двох або більше антитіл або фрагментів (див., наприклад, патент США 4676980 і Brennan et al., Science, 229: 81 (1985)); із застосуванням лейцинових зіперів для одержання біспецифічних антитіл (див., наприклад, Kostelny et al., J. Immunol., 148(5):1547-1553 (1992)); із застосуванням технології «діатіл» для одержання фрагментів біспецифічних антитіл (див., наприклад, Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)); і із застосуванням димерів одноланцюгових Fv (sFv) (див., наприклад, Gruber et al., J. Immunol., 152:5368 (1994)); і одержанням триспецифічних антитіл, як описано, наприклад, у Tutt et al. J. Immunol. 147: 60 (1991).

[0164] Додатково, до даного винаходу включені сконструйовані антитіла з трьома або більше функціональними сайтами зв'язування з антигеном, включаючи «осьминожі антитіла» (див., наприклад, US 2006/0025576A1).

[0165] Антитіло або його фрагмент у цьому винаході додатково включає «Fab подвійної дії» або «DAF», що містить антигензв'язуючий сайт, який зв'язується з CD79b, а також з іншим, відмінним антигеном (див., наприклад, US 2008/0069820).

7. Варіанти антитіл

[0166] У деяких варіантах реалізації винаходу включені варіанти амінокислотних послідовностей антитіл, запропонованих у цьому документі. Наприклад, може бути бажаним покращення афінності зв'язування та/або інших біологічних властивостей антитіла. Варіанти амінокислотної послідовності антитіл можна одержувати шляхом введення відповідних модифікацій в нуклеотидну послідовність, що кодує антитіло, або за допомогою пептидного синтезу. Такі модифікації включають, наприклад, делеції та/або інсерції та/або заміни залишків в амінокислотній послідовності антитіла. Будь-яку комбінацію делеції, інсерції і заміни можна ввести для одержання кінцевої конструкції, за умови, що кінцева конструкція володіє бажаними характеристиками, наприклад, зв'язування з антигеном.

а) Варіанти із заміною, інсерцією та делецією

[0167] У деяких варіантах реалізації винаходу передбачені варіанти антитіл, що містять одну або більше замін амінокислот. Цільові сайти для мутагенезу із заміною включають HVR і FR. Консервативні заміни наведені у Табл. 1 під заголовком «переважні заміни». Більш суттєві модифікації наведені у Табл. 1 під заголовком «ілюстративні заміни» і додатково описані нижче з посиланням на класи бічного ланцюга амінокислот. Заміни амінокислот можуть бути введені у цільове антитіло, а продукти піддані скринінгу щодо бажаної активності, наприклад, збереження/покращення зв'язування з антигеном, зниження імуногенності або покращення АЗКЦ або КЗЦ.

Таблиця 1

| Початковий залишок | Приклади замін | Переважні заміни |
|--------------------|------------------------------------|------------------|
| Ala (A) | Val; Leu; Ile | Val |
| Arg (R) | Lys; Gln; Asn | Lys |
| Asn (N) | Gln; His; Asp, Lys; Arg | Gln |
| Asp (D) | Glu; Asn | Glu |
| Cys (C) | Ser; Ala | Ser |
| Gln (Q) | Asn; Glu | Asn |
| Glu (E) | Asp; Gln | Asp |
| Gly (G) | Ala | Ala |
| His (H) | Asn; Gln; Lys; Arg | Arg |
| Ile (I) | Leu; Val; Met; Ala; Phe; норлейцин | Leu |
| Leu (L) | норлейцин; Ile; Val; Met; Ala; Phe | Ile |
| Lys (K) | Arg; Gln; Asn | Arg |
| Met (M) | Leu; Phe; Ile | Leu |
| Phe (F) | Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr | Tyr |
| Pro (P) | Ala | Ala |
| Ser (S) | Thr | Thr |
| Thr (T) | Val; Ser | Ser |
| Trp (W) | Tyr; Phe | Tyr |
| Tyr (Y) | Trp; Phe; Thr; Ser | Phe |
| Val (V) | Ile; Leu; Met; Phe; Ala; норлейцин | Leu |

[0168] Амінокислоти можуть бути згруповані, в залежності від загальних властивостей бічного ланцюга, таких як:

- 5 (1) гідрофобні: норлейцин, Met, Ala, Val, Leu, Ile;
- (2) нейтральні гідрофільні: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;
- (3) кислі: Asp, Glu;
- (4) основні: His, Lys, Arg;
- (5) залишки, які впливають на орієнтацію ланцюга: Gly, Pro;
- 10 (6) ароматичні: Trp, Tyr, Phe.

[0169] Неконсервативні заміни призводять до заміни елемента одного з вказаних класів на елемент іншого класу.

- [0170] Один тип заміщеного варіанту включає заміну одного або декількох залишків гіперваріабельної ділянки батьківського антитіла (наприклад, гуманізованого або людського антитіла). У загальному випадку, одержаний(і) варіант(и), відібраний для подальшого дослідження, буде містити модифікації (наприклад, удосконалення) певних біологічних властивостей (наприклад, підвищена афінність, знижена імуногенність) відносно батьківського антитіла та/або володітиме деякими по суті збереженими біологічними властивостями початкового антитіла. Прикладом варіанту заміни є антитіло із зрілою афінністю, яке можна легко згенерувати, наприклад, із застосуванням фагового дисплею на базі методик дозрівання афінності, таких як описані у цьому документі. Якщо коротко, один або більше залишків HVR піддають мутації, причому варіантні антитіла відображають на фазі і піддають скринінгу щодо конкретної біологічної активності (наприклад, афінності зв'язування).

- [0171] Модифікації (наприклад, заміни) можуть бути здійснені в HVR, наприклад, для покращення афінності антитіла. Такі модифікації можуть бути здійснені у «гарячих точках» HVR, тобто, залишках, кодованих кодонами, які з високою частотою зазнають мутації в ході процесу соматичного дозрівання (див., наприклад, Chowdhury, Methods Mol. Biol. 207:179-196 (2008)), та/або залишках, які контактують з антигеном, причому одержаний варіант VH або VL тестують на афінність зв'язування. Дозрівання афінності в результаті конструювання і повторного відбору із вторинних бібліотек описане, наприклад, у Hoogenboom et al. in Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001)). У деяких варіантах реалізації винаходу з дозріванням афінності різномірність вводять у варіабельні гени, вибрані для дозрівання, за допомогою будь-якого з численних способів (наприклад, схильна до помилок ПЛР, перетасування ланцюгів або олігонуклеотид-спрямований мутагенез). Далі створюють вторинну бібліотеку. Після цього бібліотеку піддають скринінгу для ідентифікації будь-яких варіантів антитіла з необхідною афінністю. Інший спосіб введення різномірності включає HVR-

спрямовані підходи, коли рандомізують декілька залишків HVR (наприклад, 4-6 залишків за один раз). Залишки HVR, що беруть участь у зв'язуванні з антигеном, можуть бути конкретно ідентифіковані, наприклад, із застосуванням аланін-сканувального мутагенезу або моделювання. Зокрема, мішенню часто служать CDR-H3 і CDR-L3.

[0172] У деяких варіантах реалізації винаходу заміни, вставки, або делеції можуть відбуватися в межах одного або більше HVR, за умови, що такі модифікації не спричиняють істотного зниження здатності антитіла до зв'язування з антигеном. Наприклад, консервативні модифікації (наприклад, консервативні заміни, запропоновані у цьому документі), які не зменшують значною мірою афінності зв'язування, можуть бути здійснені у HVR. Такі модифікації можуть, наприклад, можуть бути локалізовані поза межами залишків, що контактують антигеном з HVR. У деяких варіантах реалізації винаходу, у представлених вище варіантах послідовностей VH і VL кожен HVR залишається незмінним або містить не більше однієї, двох або трьох замін амінокислот.

[0173] Відповідний спосіб ідентифікації залишків або ділянок антитіла, на які може бути спрямований мутагенез, має назву «аланін-сканувального мутагенезу», як описано у Cunningham and Wells (1989) Science, 244:1081-1085. В цьому способі залишок або групу цільових залишків (наприклад, заряджених залишків, таких як Arg, Asp, His, Lys і Glu) ідентифікують і замінюють нейтральними або негативно зарядженими амінокислотами (наприклад, аланіном або поліаланіном), щоб визначити, чи вплине це на взаємодію антитіла з антигеном. Додаткові заміни можуть бути введені в положеннях амінокислот, що демонструють функціональну чутливість до первинних замін. Як альтернатива або додатково, кристалічна структура комплексу антиген-антитіло допомагає ідентифікувати точки контакту між антитілом і антигеном. Такі контактуючі залишки і сусідні залишки можуть слугувати в якості мішені або можуть бути видалені як кандидати для заміни. Варіанти можуть бути піддані скринінгу для визначення наявності у них бажаних властивостей.

[0174] Інсерції в амінокислотній послідовності включають злиття на аміно- та/або карбоксильному кінці, з довжиною, що варіює від одного залишку до поліпептидів, що містять сто або більше залишків, а також інсерції одного або декількох амінокислотних залишків усередині послідовності. Приклади кінцевих інсерцій включають антитіло з N-кінцевим метіонільним залишком. Інші інсерційні варіанти молекули антитіла включають злиття N- або C-кінця антитіла з ферментом (наприклад, для антитіло-опосередкованої терапії із застосуванням ферментів або проліків (АОТФП)) або поліпептидом, який збільшує період напіввиведення антитіла з сироватки.

В) Варіанти глікозилювання

[0175] У деяких варіантах реалізації винаходу антитіла, запропоновані у цьому винаході, модифіковані для збільшення або зменшення ступеня глікозилювання антитіла. Додавання або видалення сайтів глікозилювання з антитіла зручно здійснювати шляхом модифікації амінокислотної послідовності таким чином, щоб створити або видалити один або більше сайтів глікозилювання.

[0176] Якщо антитіло містить ділянку Fc, то карбогідрат, приєднаний до неї, може бути модифікованим. Нативні антитіла, що продукуються клітинами ссавців, звичайно містять розгалужений, біантенарний олігосахарид, що, як правило, приєднаний за допомогою N-зв'язку до Asn297 домену CH2 ділянки Fc. Див. наприклад, Wright et al. TIBTECH 15:26-32 (1997). Олігосахарид може містити різні карбогідрати, наприклад, манозу, N-ацетилглюкозамін (GlcNAc), галактозу і сіалову кислоту, а також фукозу, приєднану до GlcNAc у «стовбурі» структури біантенарного олігосахариду. У деяких варіантах реалізації винаходу модифікації олігосахариду в антитілі за винаходом можуть бути здійснені таким чином, щоб створити варіанти антитіла з деякими покращеними властивостями.

[0177] В одному варіанті реалізації винаходу передбачені варіанти антитіла, що містять гідрогенкарбонові структури, позбавлені фукози, приєднаної (безпосередньо або опосередковано) до ділянки Fc. Наприклад, кількість фукози в такому антитілі може становити від 1% до 80%, від 1% до 65%, від 5% до 65% або від 20% до 40%. Кількість фукози визначають шляхом обчислення середньої кількості фукози в межах цукрового ланцюга на Asn297, по відношенню до суми всіх глікоструктур, приєднаних до Asn297 (наприклад, комплексних, гібридних і структур із високим вмістом манози), наприклад, за даними вимірювання за допомогою мас-спектрометрії з часопролітною іонізацією лазерною десорбцією з використанням матриці (MALDI-TOF), як описано у WO 2008/077546. Asn297 позначає залишок аспарагіну, розташований поблизу положення 297 ділянки Fc (нумерація ЕС залишків ділянки Fc); однак Asn297 також може бути розташований приблизно на ± 3 амінокислоти проти ходу або по ходу транскрипції відносно положення 297, тобто, між положеннями 294 і 300, внаслідок

незначних варіацій послідовності в антитілах. Такі варіанти фукозилювання можуть володіти покращеною функцією АЗКЦ. Див., наприклад, публікації патентів США № US 2003/0157108 (Presta, L.); US 2004/0093621 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd). Приклади публікацій, що відносяться до «дефукозилюваних» або «фукозодефіцитних» варіантів антитіл, включають: US 2003/0157108; WO 2000/61739; WO 2001/29246; US 2003/0115614; US 2002/0164328; US 2004/0093621; US 2004/0132140; US 2004/0110704; US 2004/0110282; US 2004/0109865; WO 2003/085119; WO 2003/084570; WO 2005/035586; WO 2005/035778; WO2005/053742; WO2002/031140; Okazaki et al. J. Mol. Biol. 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004). Приклади клітинних ліній, здатних до продукування дефукозилюваних антитіл, включають клітини Lec13 CHO з дефіцитом фукозилювання білка (див. Ripka et al. Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986); Заявку на видачу патенту США № US 2003/0157108 A1, Presta, L.; і WO 2004/056312 A1, Adams із спіавт., особливо у Прикладі 11), і нокаутовані клітинні лінії, такі як клітини CHO з нокаутованим геном альфа-1,6-фукозилтрансферази, FUT8 (див., наприклад, Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004); Kanda, Y. et al., Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688 (2006); і WO2003/085107).

[0178] Варіанти антитіл додатково оснащені розділеними навіпіл олігосахаридами, наприклад, у яких біантенарний олігосахарид, приєднаний до ділянки Fc антитіла, розділений навіпіл GlcNAc. Таким варіантам антитіл може бути властивий зменшений ступінь фукозилювання та/або покращена АЗКЦ. Приклади таких варіантів антитіл описані, наприклад, у WO 2003/011878 (Jean-Mairet із спіавт.); патенті США № 6602684 (Umana із спіавт.); і US 2005/0123546 (Umana із спіавт.). Додатково запропоновані варіанти антитіл, які містять щонайменше один залишок галактози в олігосахариді, приєднаному до ділянки Fc. Такі варіанти антитіл можуть володіти покращеною функцією КЗЦ. Такі варіанти антитіл описані, наприклад, у WO 1997/30087 (Patel et al.); WO 1998/58964 (Raju, S.); WO 1999/22764 (Raju, S.).

с) Варіанти ділянки Fc

[0179] У деяких варіантах реалізації винаходу одна або більше модифікацій амінокислот можуть бути введені у ділянку Fc антитіла, запропонованого у цьому винаході, тим самим формуючи варіант ділянки Fc. Варіант ділянки Fc може містити послідовність ділянки Fc людини (наприклад, IgG1, IgG2, IgG3 людини або ділянку Fc IgG4), що містить модифікацію амінокислоти (наприклад, заміну) в одному або декількох положеннях амінокислот.

[0180] У деяких варіантах реалізації винаходу пропонується варіант антитіла, що володіє деякими, але не всіма ефекторними функціями, які роблять його бажаним кандидатом для тих галузей застосування, для яких має значення період напіввиведення антитіла *in vivo*, тоді як деякі ефекторні функції (такі як комплемент і АЗКЦ) є непотрібними або шкідливими. Аналізи цитотоксичності *in vitro* та/або *in vivo* можна проводити для підтвердження відновлення/виснаження активності КЗЦ та/або АЗКЦ. Наприклад, можуть бути проведені аналізи зв'язування з рецептором Fc (FcR), щоб гарантувати, відсутність зв'язування антитіла із FCγR (і, таким чином, ймовірно відсутність активності АЗКЦ), але збереження здатності зв'язування із FcRn. Клітини, що головним чином опосередковують АЗКЦ, NK-клітини, експресують тільки FcR(III), тоді як моноцити експресують FcR(I, FcR(II і FcR(III). Експресія FcR на гемопоетичних клітинах стисло охарактеризована у Табл. 3 на сторінці 464 в Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9: 457-492 (1991). Необмежуючі приклади аналізів *in vitro* для оцінки активності АЗКЦ цільової молекули описані у патентах США № 5500362 (см., наприклад, Hellstrom, I. et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83: 7059-7063 (1986)) і Hellstrom, I et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 82: 1499-1502 (1985); 5821337 (см. Bruggemann, M. et al., J. Exp. Med. 166:1351-1361 (1987)). В якості альтернативи, можна застосовувати методи нерадіоактивного аналізу (див., наприклад, нерадіоактивний аналіз цитотоксичності АСТІ™ для проточної цитометрії (CellTechnology, Inc., Маунтін-Вью, Каліфорнія; і нерадіоактивний аналіз цитотоксичності CytoTox 96® (Promega, Медісон, Вісконсин). Ефекторні клітини, придатні для таких аналізів, включають мононуклеарні клітини периферичної крові (МПК) і природні клітини-кілери (ПК). В якості альтернативи або додатково, активність АЗКЦ цільової молекули може бути оцінена *in vivo*, наприклад, на тваринній моделі, такій як модель, описана у Clynes et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 95:652-656 (1998). Додатково можуть бути проведені аналізи зв'язування із C1q для підтвердження неспроможності антитіла зв'язуватися з C1q і, таким чином, відсутності КЗЦ активності. Див., наприклад, ТІФА зв'язування із C1q і C3с у WO 2006/029879 і WO 2005/100402. Для оцінки активації комплементу може бути проведений аналіз КЗЦ (див., наприклад, Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202:163 (1996); Cragg, M.S. et al., Blood 101:1045-1052 (2003); і Cragg, M.S. and M.J. Glennie, Blood 103:2738-2743 (2004)). Додатково, можна провести визначення зв'язування із FcRn і кліренсу/періоду напіввиведення *in vivo* із застосуванням

способів, відомих в цій галузі техніки (див., наприклад, Petkova, S.B. et al., Int'l. Immunol. 18(12):1759-1769 (2006)).

[0181] Антитіла із зниженою ефекторною функцією включають антитіла із заміною одного або декількох залишків 238, 265, 269, 270, 297, 327 і 329 в ділянці Fc (патент США 6737056).
5 Такі мутанти Fc включають мутанти Fc із замінами в двох або більше положень амінокислот 265, 269, 270, 325 і 327, включаючи так званий мутант Fc "DANA" із заміною залишків аланіну 265 і 297 (патент США № 7332581).

[0182] У деяких аспектах анти-CD79b антитіло (наприклад, анти-CD79b антитіло ТЗБ) містить ділянку Fc з мутацією N297G.

10 [0183] У деяких варіантах реалізації винаходу анти-CD79b антитіло, що містить мутацію N297G, містить один або більше константних доменів важкого ланцюга, причому один або більше константних доменів важкого ланцюга вибрані з першого домену CH1 (CH1₁), першого домену CH2 (CH2₁), першого домену CH3 (CH3₁), другого домену CH1 (CH1₂), другого домену CH2 (CH2₂) і другого домену CH3 (CH3₂). У деяких варіантах реалізації винаходу щонайменше
15 один з одного або більше константних доменів важкого ланцюга спарений з іншим константним доменом важкого ланцюга. У деяких варіантах реалізації винаходу кожен з доменів CH3₁ і CH3₂ містить виступ або порожнину, причому виступ або порожнина в домені CH3₁ розташовані у порожнині або виступі домену CH3₂, відповідно. У деяких варіантах реалізації винаходу домени CH3₁ і CH3₂ зустрічаються на межі розділу між вказаним виступом і порожниною. У деяких
20 варіантах реалізації винаходу кожен із доменів CH2₁ і CH2₂ містить виступ або порожнину, причому виступ або порожнина в домені CH2₁ розташовані у порожнині або виступі домену CH2₂, відповідно. У деяких варіантах реалізації винаходу домени CH2₁ і CH2₂ зустрічаються на межі розділу між вказаним виступом і порожниною. В деяких випадках анти-CD3 антитіло є антитілом IgG1.

25 [0184] Описані деякі варіанти антитіл з підсиленням або послабленням зв'язуванням із FcR. (Див., наприклад, патент США № 6737056; WO 2004/056312 і Shields et al., J. Biol. Chem. 9(2): 6591-6604 (2001)).

[0185] У деяких варіантах реалізації винаходу варіант антитіла містить ділянку Fc з однією або більше замінами амінокислот, які покращують АЗКЦ, наприклад, заміни в положеннях 298,
30 333 та/або 334 ділянки Fc (нумерація залишків ЕС).

[0186] У деяких варіантах реалізації винаходу в ділянці Fc здійснені модифікації, які приводять до змін (тобто, покращення, підвищення або послаблення) зв'язування з C1q та/або комплементзалежної цитотоксичності (КЗЦ), наприклад, як описано в патенті США № 6194551, WO 99/51642, і Idusogie et al. J. Immunol. 164: 4178-4184 (2000).

35 [0187] Антитіла із збільшеним періодом напіввиведення і покращеним зв'язуванням з Fc рецептором новонароджених (FcRn), який відповідає за перенесення материнських IgG в організм плоду (Guyer et al., J. Immunol. 117:587 (1976) і Kim et al., J. Immunol. 24:249 (1994)), описані в US 2005/0014934A1 (Hinton із співавт.). Вказані антитіла містять ділянку Fc з однією або більше замінами, які покращують зв'язування ділянки Fc із FcRn. Такі варіанти Fc
40 включають варіанти із замінами в одному або декількох положеннях ділянки Fc: 238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424 і 434, наприклад, заміною в положенні 434 ділянки Fc (патент США № 7371826). Додатково, див. Duncan & Winter, Nature 322:738-40 (1988); патент США № 5648260; патент США № 5624821; і WO 94/29351 щодо інших прикладів варіантів ділянки Fc.

45 d) Модифіковані цистеїном варіанти антитіл

[0188] У деяких варіантах реалізації винаходу може бути бажаним створити модифіковані цистеїном антитіла, наприклад, «тіоМAb», у яких один або більше залишків антитіла замінені залишками цистеїну. В конкретних варіантах реалізації винаходу замінені залишки знаходяться у доступних сайтах антитіла. Шляхом заміни вказаних залишків на цистеїн, реакційноздатні
50 тіольні групи, таким чином, розміщуються у доступних сайтах антитіла і можуть бути використані для кон'югації антитіла з іншими фрагментами, такими як лікарські фрагменти або фрагменти лінкер-лікарський засіб, з метою створення імунокон'югату, описаного у цьому документі нижче. У деяких варіантах реалізації винаходу будь-який один або більше з наступних залишків можуть бути замінені цистеїном: V205 (нумерація Kabat) легкого ланцюга; A118 (нумерація ЕС) важкого ланцюга; і S400 (нумерація ЕС) ділянки Fc важкого ланцюга. Модифіковані цистеїном антитіла
55 можна згенерувати, як описано, наприклад, у патенті США № 7521541.

e) Похідні антитіл

[0189] У деяких варіантах реалізації винаходу запропоновані у цьому документі антитіла можуть бути додатково модифіковані для введення додаткових небілкових фрагментів, які
60 відомі в цій галузі техніки і є легкодоступними. Фрагменти, придатні для дериватизації антитіла,

включають, але не обмежуючись цим, водорозчинні полімери. Необмежуючі приклади водорозчинних полімерів включають, але не обмежуючись цим, поліетиленгліколь (ПЕГ), кополімери етиленгліколю і пропіленгліколю, карбоксиметилцелюлозу, декстран, полівініловий спирт, полівінілпіролідон, полі-1,3-діоксолан, полі-1,3,6-триоксан, кополімер етилену/малеїнового ангідриду, поліамінокислоти (гомополімери або статистичні кополімери) і декстран або полі(н-вінілпіролідон) поліетиленгліколь, гомополімери пропропіленгліколю, кополімери поліпропіленоксиду/етиленоксиду, поліоксиетильовані поліолі (наприклад, гліцерол), полівініловий спирт і їх суміші. Поліетиленгліколь пропіоновий альдегід може забезпечувати переваги при виготовленні за рахунок його стабільності у воді. Полімер може мати будь-яку молекулярну масу і може бути розгалуженим або нерозгалуженим. Кількість полімерів, приєднаних до антитіла, може варіювати, при цьому, якщо приєднаний більш ніж один полімер, вони можуть бути однаковими або різними молекулами. Загалом, кількість та/або тип полімерів, застосовуваних для дериватизації, можуть бути визначені на підставі таких міркувань, як, але не обмежуючись цим, конкретні властивості або функції антитіла, які повинні бути покращені, чи буде похідне антитіла застосовуватися для терапії в певних умовах і т.д.

[0190] В іншому варіанті реалізації винаходу включені кон'югати антитіла і небілкового фрагмента, які можуть бути вибірково нагріті під дією випромінювання. В одному варіанті реалізації винаходу небілковий фрагмент є карбоною нанотрубкою (Kam et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 11600-11605 (2005)). Випромінювання може мати будь-яку довжину хвилі і включає, але не обмежуючись цим, довжини хвиль, які не шкодять звичайним клітинам, але які нагрівають небілковий фрагмент до температури, при якій гинуть клітини поблизу антитіла-небілкового фрагменту.

В. Рекombінантні способи і композиції

[0191] Антитіла можуть бути одержані із застосуванням рекombінантних способів і композицій, наприклад, як описано в патенті США № 4816567. В одному варіанті реалізації винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, що кодує описані у цьому документі анти-CD79b антитіла. Така нуклеїнова кислота може кодувати амінокислотну послідовність, що містить VL, та/або амінокислотну послідовність, що містить VH антитіла (наприклад, легкі та/або важкі ланцюги антитіла). У ще одному варіанті реалізації винаходу пропонується один або більше векторів (наприклад, векторів експресії), що містять такі нуклеїнові кислоти. У ще одному варіанті реалізації даного винаходу пропонується клітина-хазяїн, що містить таку нуклеїнову кислоту. В одному такому варіанті реалізації винаходу клітина-хазяїн містить (наприклад, була трансформована): (1) вектор, що містить нуклеїнову кислоту, яка кодує амінокислотну послідовність, що містить VL антитіла, і амінокислотну послідовність, що містить VH антитіла, або (2) перший вектор, що містить нуклеїнову кислоту, яка кодує амінокислотну послідовність, що містить VL антитіла, і другий вектор, що містить нуклеїнову кислоту, яка кодує амінокислотну послідовність, що містить VH антитіла. В одному варіанті реалізації винаходу клітина-хазяїн є еукаріотичною, наприклад, клітина яєчника китайського хом'ячка (CHO) або лімфоїдною клітиною (наприклад, клітина Y0, NS0, Sp20). В одному варіанті реалізації винаходу пропонується спосіб одержання анти-CD79b антитіла, який включає культивування клітини-хазяїна, що містить нуклеїнову кислоту, яка кодує антитіло, як описано вище, в умовах, придатних для експресії антитіла, і необов'язкове виділення антитіла з клітини-хазяїна (або культурального середовища клітини-хазяїна).

[0192] Для рекombінантного продукування анти-CD79b антитіла, нуклеїнову кислоту, що кодує антитіло, наприклад, як описано вище, виділяють і вставляють в один або більше векторів для подальшого клонування та/або експресії у клітині-хазяїні. Такі нуклеїнові кислоти можуть бути легко виділені і секвеновані із застосуванням звичайних методик (наприклад, із застосуванням олігонуклеотидних зондів, які здатні специфічно зв'язуватися з генами, що кодують важкі і легкі ланцюги антитіла).

[0193] Відповідні клітини-хазяї для клонування або експресії векторів, що кодують антитіла, включають прокаріотичні або еукаріотичні клітини, описані у цьому документі. Наприклад, антитіла можуть продукуватися у бактеріях, особливо якщо немає необхідності у глікозилюванні та ефекторній функції Fc. Стосовно експресії фрагментів антитіл і поліпептидів у бактеріях, див., наприклад, патенти США №№ 5648237, 5789199 і 5840523. (Див. також Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), стр. 245-254, де описана експресія фрагментів антитіл в E. coli). Після експресії антитіло може бути виділене з бактеріальної клітинної маси у розчинній фракції і може бути додатково очищене.

[0194] На додаток до прокаріотів, еукаріотичні мікроби, такі як ниткоподібні гриби або дріжджі, є придатними хазяями для клонування або експресії векторів, що кодують антитіла, зокрема, штами грибів і дріжджів, шляхи глікозилювання яких були «гуманізовані», що

забезпечує продукування антитіл з частково або повністю людським патерном глікозилування. Див. Gerngross, Nat. Biotech. 22:1409-1414 (2004), і Li et al., Nat. Biotech. 24:210-215 (2006).

[0195] Крім того, придатні клітини-хазяї для експресії глікозильованого антитіла одержують з багатоклітинних організмів (безхребетних і хребетних). Приклади клітин безхребетних включають клітини рослин і комах. Були ідентифіковані численні штами бакуловірусу, які можна використовувати в поєднанні з клітинами комах, зокрема, для трансфекції клітин *Spodoptera frugiperda*.

[0196] Додатково, культури рослинних клітин можна застосовувати в якості хазяїв. Див., наприклад, патенти США №№ 5959177, 6040498, 6420548, 7125978 і 6417429 (в яких описана технологія продукування антитіл у трансгенних рослинах PLANTIBODIES™).

[0197] Клітини хребетних також можна застосовувати в якості хазяїв.. Наприклад, придатними можуть бути клітинні лінії ссавців, адаптовані до росту в суспензії. Іншими прикладами придатних ліній ссавцевих клітин-хазяїв є лінія ниркових клітин мавпи CV1, трансформована SV40 (COS-7); лінія ембріональних ниркових клітин людини (293 або клітини 293, як описано, наприклад, у Graham et al., J. Gen Virol. 36:59 (1977)); ниркові клітини дитинчати хом'яка (BHK); мишачі клітини Сертолі (клітини TM4, як описано, наприклад, у Mather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980); ниркові клітини мавпи (CV1); ниркові клітини африканської зеленої мавпи (VERO-76); клітини карциноми шийки матки людини (HELA); ниркові клітини собаки (MDCK); клітини печінки буйволового щура (BRL 3A); клітини легені людини (W138); клітини печінки людини (Hep G2); клітини пухлини молочної залози миші (MMT 060562); клітини TRI, описані, наприклад, у Mather et al., Annals N.Y. Acad. Sci. 383:44-68 (1982); клітини MRC 5; і клітини FS4. Інші корисні лінії клітин-хазяїв ссавців включають клітини яєчника китайського хом'яка (CHO), включаючи клітини ДГФР-CHO (Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216 (1980)); і клітинні лінії мієломи, такі як Y0, NS0 і Sp2/0. Огляд деяких придатних ліній ссавцевих клітин-хазяїв для одержання антитіл, див. наприклад, у Yazaki and Wu, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003).

С. Аналізи

[0198] Анти-CD79b антитіла, запропоновані у цьому винаході, можуть бути ідентифіковані, піддані скринінгу або охарактеризовані за їх фізико-хімічними властивостями та/або біологічною активністю за допомогою різноманітних аналізів, відомих у даній галузі техніки.

1. Аналізи зв'язування та інші аналізи

[0199] В одному аспекті, антитіло за винаходом тестують щодо активності зв'язування з антигеном, наприклад, відовими способами, такими як ТІФА, Вестерн-блотинг і т.п.

[0200] В іншому аспекті можна застосовувати конкурентні аналізи для ідентифікації антитіла, яке конкурує з анти-CD79b антитілом, описаним у цьому документі, за зв'язування з CD79b. У деяких варіантах реалізації винаходу таке конкуруюче антитіло зв'язується з тим же епітопом (наприклад, лінійним або конформаційним епітопом), з яким зв'язується описане у цьому документі анти-CD79b антитіло. Докладні приклади способів картування епітопу, з яким зв'язується антитіло, наведені у Morris (1996) «Epitope Mapping Protocols», in Methods in Molecular Biology vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ).

[0201] У прикладі конкурентного аналізу іммобілізований CD79b інкубують у розчині, що містить перше мічене антитіло, яке зв'язується з CD79b (наприклад, описане у цьому документі анти-CD79b антитіло), і друге немічене антитіло, яке тестують щодо його здатності конкурувати з першим антитілом за зв'язування з CD79b. Друге антитіло може бути присутнім у супернатанті гібридами. Для контролю іммобілізований CD79b інкубують в розчині, що містить перше мічене антитіло, але не друге немічене антитіло. Після інкубації в умовах, що забезпечують зв'язування першого антитіла з CD79b, надлишок незв'язаного антитіла видаляють, а кількість мітки, зв'язаної з іммобілізованим CD79b, вимірюють. Якщо кількість мітки, зв'язаної з іммобілізованим CD79b, істотно знижується в тестованому зразку, в порівнянні із контрольним зразком, це вказує на конкуренцію другого антитіла з першим антитілом за зв'язування з CD79b. Див. Harlow and Lane (1988) Antibodies: A Laboratory Manual ch.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY).

2. Аналізи активності

[0202] В одному аспекті передбачені аналізи для ідентифікації анти-CD79b антитіл (наприклад, анти-CD79b/CD3 антитіла ТЗБ), що володіють біологічною активністю. Біологічна активність може включати, наприклад, здатність пригнічувати ріст або проліферацію клітин (наприклад, «цитотоксична» активність), здатність спричиняти загибель клітин, включаючи запрограмовану загибель клітин (апоптоз) або антигензв'язуючу активність. Додатково, запропоновані антитіла, що виявляють таку біологічну активність in vivo та/або in vitro.

[0203] В деяких варіантах реалізації винаходу активність включає здатність підтримувати цитолітичну активність по відношенню до В-клітин та/або активацію цитотоксичних Т-клітин. У деяких варіантах реалізації винаходу анти-CD79b антитіло (наприклад, анти-CD79b/CD3 антитіло ТЗБ) за винаходом тестують щодо наявності біологічної активності у формі такої цитолітичної активності по відношенню до В-клітин та/або активації цитотоксичного ефекту Т-клітин за допомогою будь-якого із способів, описаних в цьому документі, зокрема, у Прикладах. У деяких варіантах будь-якого із вказаних аналізів активності, МПК можуть бути виділені із суцільної крові здорових донорів за допомогою розділення на Ficoll. Зокрема, кров людини можна зібрати у гепаринізовані шприци і виділити МПК із застосуванням Leucosep і Ficoll Raque Plus. При необхідності, CD4+ Т- і CD8+ Т-клітини можна відокремити із застосуванням наборів Miltenyi, відповідно до інструкцій виробника.

[0204] Крім того, клітини можна промити середовищем RPMI, що містить 10% сироватки телячого ембріона (СТЕ), з додаванням GlutaMax, пеніциліну і стрептоміцину, причому ~0,2 млн суспендованих клітин поміщають на 96-лунковий планшет з U-донними лунками. Клітини можна культивувати у середовищі RPMI 1640 з додаванням 10% СТЕ при 37°C у зволоженому стандартному інкубаторі для культури клітин. Для проведення аналізів цитотоксичності по відношенню до клітин BJAВ, 20000 клітин BJAВ можна інкубувати протягом 24 годин з ефекторними клітинами у вигляді МПК людини або очищених Т-клітин у вказаних для аналізу співвідношеннях, у присутності різних концентрацій антитіл ТЗБ. Для проведення аналізів цитолітичної активності по відношенню до ендогенних В-клітин 200000 МПК людини можна інкубувати з різними концентраціями антитіл ТЗБ протягом 24 годин.

[0205] Після культивування клітини можна промити буфером СКАФ (0,5% БСА, 0,05% натрій азиду у ФСБ). Клітини можна фарбувати в буфері СКАФ, промити буфером СКАФ і суспендувати у 100 мкл буфера СКАФ, що містить 1 мкг/мл пропідій йодиду. Дані можна зареєструвати на проточному цитометрі FACSCalibur і проаналізувати із застосуванням FlowJo. Живі В-клітини можна відсікти, як PI-CD19+ або PI-CD20+ В-клітини за допомогою СКАФ, а абсолютну кількість клітин можна визначити при додаванні до реакційної суміші гранул флуоресцеїну ізотіоціанату (ФІТЦ) в якості внутрішнього контролю кількості імпульсів. % загибелі клітин може бути обчислений на базі необробленого контролю ТЗБ. Активовані Т-клітини можна знайти із застосуванням поверхневої експресії CD69 і CD25 із застосуванням анти-CD69-ФІТЦ і анти-CD25-ФЕ.

D. Імунокон'югати

[0206] У винаході додатково пропонуються імунокон'югати, що містять анти-CD79b антитіло, кон'юговане з одним або декількома цитотоксичними агентами, такими як хіміотерапевтичні агенти або лікарські засоби, агенти, що пригнічують ріст, токсини (наприклад, білкові токсини, ферментативно активні токсини бактеріального, грибового, рослинного або тваринного походження або їх фрагменти) або радіоактивні ізотопи.

[0207] В одному варіанті реалізації винаходу кон'югат являє собою кон'югат антитіло-лікарський засіб (АЛС), в якому антитіло кон'юговане з одним або декількома лікарськими засобами, включаючи, але не обмежуючись цим, майтансиноїд (див. патенти США №№ 5208020, 5416064 і Європейський патент EP 0425235 B1); ауристатин, такий як момометилауриностатинові фрагменти лікарського засобу DE і DF (MMAE і MMAF) (див. патенти США №№ 5635483, 5780588 і 7498298); доластатин; каліхеаміцин або його похідне (див. патенти США №№ 5712374, 5714586, 5739116, 5767285, 5770701, 5770710, 5773001 і 5877296; Hinman et al., Cancer Res. 53:3336-3342 (1993); и Lode et al., Cancer Res. 58:2925-2928 (1998)); антрациклін, такий як дауноміцин або доксорубіцин (див. Kratz et al., Current Med. Chem. 13:477-523 (2006); Jeffrey et al., Bioorganic & Med. Chem. Letters 16:358-362 (2006); Torgov et al., Bioconj. Chem. 16:717-721 (2005); Nagy et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:829-834 (2000); Dubowchik et al., Bioorg. & Med. Chem. Letters 12:1529-1532 (2002); King et al., J. Med. Chem. 45:4336-4343 (2002); і патент США №. 6630579); метотрексат; віндезин; таксан, такий як доцетаксел, паклітаксел, ларотаксел, тезетаксел і ортатаксел; триклотецен; і CC1065.

[0208] В іншому варіанті реалізації винаходу імунокон'югат містить антитіло, описане у цьому документі, кон'юговане з ферментативно активним токсином або його фрагментом, включаючи, але не обмежуючись цим, ланцюг А дифтерійного токсину, незв'язуючі активні фрагменти дифтерійного токсину, ланцюг А екзотоксину (із *Pseudomonas aeruginosa*), ланцюг А рицину, ланцюг А абрину, ланцюг А модекцину, альфа-сарцин, білки *Aleurites fordii*, діантинові білки, білки *Phytolaca americana* (PAPI, PAPII і PAP-S), інгібітор *Momordica charantia*, курцин, кротин, інгібітор *Saponaaria officinalis*, гелонін, мітогелін, рестриктоцин, феноміцин, еноміцин і трикотецени.

[0209] В іншому варіанті реалізації винаходу імунокон'югат містить антитіло, описане у цьому документі, кон'юговане з радіоактивним атомом з утворенням радіокон'югату. Численні радіоактивні ізотопи доступні для одержання радіокон'югатів. Приклади включають At^{211} , I^{131} , I^{125} , Y^{90} , Re^{186} , Re^{188} , Sm^{153} , Bi^{212} , P^{32} , Pb^{212} і радіоактивні ізотопи Lu. Якщо радіокон'югат застосовується для виявлення, він може містити радіоактивний атом для скінтиграфічних досліджень, наприклад, ^{99m}Tc або ^{112}In або спін-мітку для візуалізації методом ядерного магнітного резонансу (ЯМР) (також відомий як магнітно-резонансна томографія, МРТ), таку як знову йод-123, йод-131, індій-111, флуор-19, карбон-13, нітроген-15, кисень-17, гадоліній, марганець або залізо.

[0210] Кон'югати антитіла і цитотоксичного агента можуть бути одержані із застосуванням численних біфункціональних зв'язуючих агентів, таких як N-сукцинімідил-3-(2-піридилдітіо)пропіонат (СПДП), сукцинімідил-4-(N-малеїнімідометил)циклогексан-1-карбоксилат (СМЦК), імінотіолан (ІТ), біфункціональні похідні імідоестерів (такі як диметиладипімідат HCl), активні естери (такі як дисукцинімідилсуберат), альдегіди (такі як глутаровий альдегід), біс-азидосполуки (такі як біс(п-азидобензоїл)гександіамін), похідні біс-діазонію (такі як біс(пара-діазонійбензоїл)етилендіамін), діізоціанат (такі як толуен-2,6-діізоціанат) і біс-активні сполуки флуору (такі як 1,5-дифлуор-2,4-динітробензен). Наприклад, імунотоксин рицини може бути одержаний, як описано у Vitetta et al., Science 238:1098 (1987). Мічена карбоном-14 1-ізоціанатобензил-3-метилдіетилен-триамінпентаоцтова кислота (MX-DTPA) є прикладом хелатувального агента для кон'югації радіонукліду з антитілом. Див. WO 94/11026. Лінкер може бути «розщеплюваним лінкером», який полегшує вивільнення цитотоксичного лікарського засобу у клітині. Наприклад, можна застосовувати кислотолабільний лінкер, чутливий до пептидази лінкер, фотоллабільний лінкер, диметиловий лінкер або дисульфідвмісний лінкер (Chari et al., Cancer Res. 52:127-131 (1992); патент США № 5208020).

[0211] Імунокон'югати або АЛС явно включені до цього винаходу, зокрема, але не обмежуються цим, такі як кон'югати, одержані з поперечно-зшиваючими лінкерними реагентами, включаючи, але не обмежуючись цим, BMPS, N-(ε-малеїнімідокапроїл)сульфосукцинімідний естер (ЕМКС), N-малеїнімідобутирил оксисукцинімідний естер (ГМБС), HBVS, (сукцинімідил-4-(N-малеїнімідометил)циклогексан-1-карбокси-(6-амідокапроат) (АК-СМЦК), м-малеїнімідобензоїл-N-гідроксисукцинімідний естер (МБС), (4-(4-N-малеїнімідофеніл)масляної кислоти гідрозид (МФМГ), сукцинімідил-3-(бромацетамідо)пропіонат (СБАП), сукцинімідилйодацетат (СІА), сукцинімідил(4-йодацетил)амінобензоат (СІАБ), СМЦК, сукцинімідил-4-(п-малеїнімідофеніл)бутират (СМФБ), сукцинімідил-6-([малеїнімідопропіонамід)гексаноат] (СМПГ), сульфо-ЕМКС, сульфо-ГМБС, N-малеїнімідоундеканоїл-оксисульфосукцинімідний естер (сульфо-КМУС), сульфо-МБС, сульфо-СІАБ, сульфо-СМЦК, сульфо-СМФБ і (сукцинімідил-4-вінілсульфоніл)бензоат (СВСБ), які є комерційно доступними (наприклад, виробництва Pierce Biotechnology, Inc., Рокфорд, Іллінойс, США).

Е. Способи і композиції для діагностики і виявлення

[0212] В одному аспекті анти-CD79b антитіла за винаходом придатні для виявлення присутності CD79b у біологічному зразку. Термін «виявлення» у цьому документі включає кількісне визначення або якісне виявлення. У деяких варіантах реалізації винаходу біологічний зразок містить клітину або тканину. У деяких варіантах реалізації винаходу такі тканини включають нормальні та/або злоякісні тканини, яким властивий більш високий рівень експресії CD79b, ніж іншим тканинам, наприклад, В-клітини та/або пов'язані з В-клітинами тканини.

[0213] В одному з варіантів реалізації винаходу пропонується анти-CD79b антитіло для застосування у способі діагностики або виявлення. В додатковому аспекті пропонується спосіб виявлення присутності CD79b у біологічному зразку. В деяких варіантах реалізації винаходу спосіб включає приведення біологічного зразка в контакт з анти-CD79b антитілом, описаним у цьому винаході, в умовах, що дозволяють зв'язування анти-CD79b антитіла з CD79b, і визначення факту утворення комплексу анти-CD79b антитіла з CD79b. Такий спосіб може бути способом *in vitro* або *in vivo*. В одному варіанті реалізації винаходу, анти-CD79b антитіло застосовують для вибору суб'єктів, придатних для терапії, із застосуванням анти-CD79b антитіла, наприклад, у випадках, в яких CD79b є біомаркером для відбору пацієнтів.

[0214] Приклади порушень клітинної проліферації, які можна діагностувати із застосуванням антитіла за винаходом, включають розлади В-клітин та/або розладу проліферації В-клітин, зокрема, але не обмежуючись цим, лімфому, неходжкінську лімфому (НХЛ), агресивну НХЛ, рецидивуючу агресивну НХЛ, рецидивуючу сповільнену НХЛ, рефрактерну НХЛ, рефрактерну сповільнену НХЛ, хронічний лімфоцитарний лейкоз (ХЛЛ), мілоклітинну лімфоцитарну лімфому, лейкоз, волосатоклітинний лейкоз (ВКЛ), гострий лімфоцитарний лейкоз (ГЛЛ) і мантийноклітинну лімфому.

[0215] Деякі інші способи можуть бути застосовані для виявлення зв'язування анти-CD79b антитіл з CD79b. Такі способи включають, але не обмежуючись цим, аналізи зв'язування з антигеном, що добре відомі в даній галузі техніки, такі як Вестерн-блоти, радіоімунний аналіз, ТІФА (твердофазний імуоферментний аналіз), «сендвічеві» імуоаналізи, аналізи імуопреципітації, флуоресцентні імуоаналізи, імуоаналізи із застосуванням білка А та імуногістохімію (ІГХ).

[0216] У деяких варіантах реалізації винаходу пропонуються мічені анти-CD79b антитіла. Мітки включають, але не обмежуючись цим, мітки або фрагменти, що виявляються безпосередньо (такі як флуоресцентні, хромофорні, електронно-щільні, хемілюмінесцентні і радіоактивні мітки), а також частини молекул, такі як ферменти або ліганди, що виявляються опосередковано, наприклад, за допомогою ферментативної реакції або молекулярної взаємодії. Прикладами міток є, але не обмежуючись цим, радіоізотопи ^{32}P , ^{14}C , ^{125}I , ^3H і ^{131}I , флуорофори, такі як рідкоземельні хелати або флуоресцеїн та його похідні, родамін та його похідні, дансил, умбеліферон, люциферази, наприклад, люцифераза світлячка і бактеріальна люцифераза (патент США 4737456), люциферин, 2,3-дигідрофталазиндіони, пероксидаза хрому (ПХ), лужна фосфатаза, бета-галактозидаза, глюкоамілаза, лізоцим, сахаридоксидази, наприклад, глюкозооксидаза, галактозооксидаза і глюкозо-6-фосфат-дегідрогеназа, гетероциклічні оксидази, такі як уриказа і ксантинооксидаза, зв'язані з ферментом, який використовує пероксид гідрогену для окиснення прекурсор фарбника, такого як ПХ, лактопероксидаза або мікропероксидаза, біотин/авідин, спін, мітки бактеріофагу, стабільні вільні радикали і т.п.

Г. Фармацевтичні композиції

[0217] Фармацевтичні препарати анти-CD79b антитіла, описаного у цьому винаході, отримують шляхом змішування такого антитіла, що має бажаний ступінь чистоти, з одним або декількома необов'язковими фармацевтично прийнятними носіями (Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)) у вигляді ліофілізованих композицій або водних розчинів. Фармацевтично прийнятні носії, як правило, є нетоксичними для реципієнтів у застосовуваних дозах і концентраціях, і включають, але не обмежуючись цим: буферні речовини, такі як фосфат, цитрат та інші органічні кислоти; антиоксиданти, включаючи аскорбінову кислоту і метіонін; консерванти (такі як октадецилдиметилбензиламоній хлорид; гексаметоній хлорид; бензалконій хлорид; бензетоній хлорид; фенол, бутиловий або бензиловий спирт; алкілпарабени, такі як метил- або пропілпарабен; катехол; резорцин; циклогексанол; 3-пентанол і м-крезол); низькомолекулярні (менш ніж близько 10 залишків) поліпептиди; білки, такі як сироватковий альбумін, желатин або імуноглобуліни; гідрофільні полімери, такі як полівінілпіролідон; амінокислоти, такі як гліцин, глутамін, аспарагін, гістидин, аргінін або лізин; моносахариди, дисахариди та інші карбогідрати, включаючи глюкозу, манозу або декстрини; хелатувальні агенти, такі як ЕДТА; цукри, такі як сахароза, маніт, трегалоза або сорбіт; солеутворюючі протиіони, такі як натрій; комплекси металів (наприклад, комплекси Zn -білок); та/або неіонні поверхнево-активні речовини, такі як поліетиленгліколь (ПЕГ). Приклади фармацевтично прийнятних носіїв додатково включають агенти для диспергування у інтерстиціальному просторі, такі як розчинні нейтрально-активні гіалуронідазні глікопротеїни (sHASEGP), наприклад, розчинні гіалуронідазні глікопротеїни людини PH-20, такі як rHuPH20 (HYLENEX[®], Baxter International, Inc.). Деякі приклади sHASEGP і способи їх застосування, включаючи rHuPH20, описані в Публікаціях патентів США №№ 2005/0260186 і 2006/0104968. В одному аспекті sHASEGP об'єднують з однією або декількома додатковими глікозаміногліканазами, такими як хондроїтиназа.

[0218] Приклади ліофілізованих композицій антитіл описані у патенті США 6267958. Водні препарати антитіл включають описані у патенті США 6171586 і WO 2006/044908, причому останні композиції містять гістидин-ацетатний буфер.

[0219] Препарати за даним винаходом можуть додатково містити більше однієї активної сполуки, якщо це є необхідним при конкретному симптомі, що підлягає лікуванню, переважно з додатковими видами активності, які не здійснюють несприятливого впливу один на одного. Наприклад, на додаток до анти-CD79b антитіла, може бути бажаним ввести в одну композицію, наприклад, додаткове анти-CD79b антитіло, друге антитіло, яке зв'язується з іншим епітопом на поліпептиді CD79b, або антитіло, націлене на яку-небудь іншу мішень, таку як фактор росту, що впливає на ріст конкретного виду раку. В якості альтернативи або додатково, композиція може містити цитотоксичний агент, хіміотерапевтичний агент, цитокін, агент, що пригнічує ріст, антигормональний засіб та/або кардіопротекторний засіб. Такі молекули присутні в композиції у кількостях, ефективних для досягнення передбаченої мети.

[0220] Активні інгредієнти можуть бути вміщені до мікрокапсул, які одержані, наприклад, способами коацервації або міжфазної полімеризації, наприклад, гідроксиметилцелюлозні або

желатинові мікрокапсули і поли(метилметакрилатні) мікрокапсули, відповідно, у колоїдні системи доставки лікарських засобів (наприклад, ліпосоми, альбумінові мікросфери, мікроемульсії, наночастинки і нанокапсули) або в макроемульсії. Такі способи описані у Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980).

5 [0221] Можуть бути одержані препарати пролонгованої дії. Відповідні приклади препаратів пролонгованої дії включають напівпроникні матриці із твердих гідрофобних полімерів, що містять антитіло, причому матриці представлені у вигляді формованих виробів, наприклад, плівок або мікрокапсул.

10 [0222] Препарати для введення *in vivo*, як правило, є стерильними. Стерильність може бути легко досягнута, наприклад, шляхом фільтрації крізь мембрани для стерильної фільтрації.

G. Терапевтичні способи і композиції

[0223] Будь-яке із анти-CD79b антитіл (наприклад, анти-CD79b/CD3 антитіло Т3Б), запропонованих у цьому документі, можна застосовувати у терапевтичних способах.

15 [0224] В одному аспекті пропонується анти-CD79b антитіло (наприклад, анти-CD79b/CD3 антитіло Т3Б) для застосування в якості лікарського засобу. У додаткових аспектах пропонується анти-CD79b антитіло (наприклад, анти-CD79b/CD3 антитіло Т3Б) для лікування або уповільнення прогресування розладу клітинної проліферації (наприклад, ракового та/або проліферативного захворювання В-клітин). У деяких варіантах реалізації винаходу пропонується анти-CD79b антитіло (наприклад, біспецифічне анти-CD79b/анти-CD3 антитіло) 20 для застосування у способі лікування. У деяких варіантах реалізації винаходу пропонується анти-CD79b антитіло (наприклад, анти-CD79b/CD3 антитіло Т3Б) для застосування у способі лікування індивіду з розладом клітинної проліферації, який включає введення індивіду ефективної кількості анти-CD79b антитіла (наприклад, анти-CD79b/CD3 антитіла Т3Б). В одному такому варіанті реалізації винаходу спосіб додатково включає введення індивіду ефективної 25 кількості щонайменше одного додаткового терапевтичного агента, наприклад, описаного нижче. У ще одному варіанті реалізації винаходу пропонується анти-CD79b антитіло (наприклад, анти-CD79b/CD3 антитіло Т3Б) для застосування з метою підсилення імунної функції у індивіда з розладом клітинної проліферації. У деяких варіантах реалізації винаходу пропонується анти-CD79b антитіло (наприклад, анти-CD79b/CD3 антитіло Т3Б) для застосування у способі 30 покращення імунної функції у індивіда з розладом клітинної проліферації, який включає введення індивіду ефективної кількості анти-CD79b антитіла (наприклад, анти-CD79b/CD3 антитіла Т3Б) для активації ефекторних клітин (наприклад, Т-клітин, наприклад, CD8+ або CD4+ Т-клітин), розширення (збільшення) популяції ефекторних клітин та/або знищення клітини-мішені (наприклад, В-клітини-мішені). «Індивід», у відповідності до будь-якого з вищеописаних 35 варіантів реалізації винаходу, може бути людиною.

[0225] В іншому аспекті винаходу пропонується застосування анти-CD79b антитіла (наприклад, анти-CD79b/CD3 антитіла Т3Б) при виготовленні або для виготовлення лікарського засобу. В одному аспекті, лікарський засіб призначений для лікування розладу клітинної проліферації (наприклад, раку та/або проліферативного розладу В-клітин). У додатковому 40 варіанті реалізації винаходу лікарський препарат призначений для застосування у способі лікування розладу клітинної проліферації, який включає введення індивіду з розладом клітинної проліферації ефективної кількості лікарського засобу. У одному такому варіанті реалізації винаходу спосіб додатково включає введення індивіду ефективної кількості щонайменше одного додаткового терапевтичного агента, наприклад, описаного нижче. У додатковому 45 варіанті реалізації винаходу пропонується лікарський засіб для активації ефекторних клітин (наприклад, Т-клітин, наприклад, CD4+ та/або CD8+ Т-клітин, розширення (збільшення)) популяції ефекторних клітин та/або знищення клітини-мішені (наприклад, В-клітини-мішені) в організмі індивіду. В додатковому варіанті реалізації винаходу лікарський препарат призначений для застосування у способі підвищення імунної функції у індивіда з порушенням клітинної 50 проліферації або аутоімунним розладом, який включає введення індивіду ефективної кількості лікарського засобу з метою активації ефекторних клітин (наприклад, Т-клітин, наприклад, CD8+ або CD4+ Т-клітин), розширення (збільшення) популяції ефекторних клітин та/або знищення клітини-мішені (наприклад, В-клітини-мішені). «Індивід», відповідно до будь-якого з вищеописаних варіантів реалізації винаходу, може бути людиною.

55 [0226] В додатковому аспекті винаходу пропонується спосіб лікування розладу клітинної проліферації (наприклад, раку та/або проліферативного розладу В-клітин). В одному варіанті реалізації винаходу спосіб включає введення індивіду з такими розладами клітинної проліферації ефективної кількості анти-CD79b антитіла (наприклад, анти-CD79b/CD3 антитіла Т3Б). В одному такому варіанті реалізації винаходу спосіб додатково включає введення індивіду 60 ефективної кількості щонайменше одного додаткового терапевтичного агента, наприклад,

описаного нижче. «Індивід», відповідно до будь-якого з вищеописаних варіантів реалізації винаходу, може бути людиною.

[0227] В іншому аспекті винаходу пропонується спосіб підсилення імунної функції у індивіду з розладом клітинної проліферації. В одному варіанті реалізації винаходу спосіб включає введення індивіду ефективної кількості анти-CD79b антитіла (наприклад, анти-CD79b/CD3 антитіла ТЗБ) з метою активації ефektorних клітин (наприклад, Т-клітин, наприклад, CD8+ або CD4+ Т-клітин), розширення (збільшення) популяції ефektorних клітин та/або знищення клітини-мішені (наприклад, В-клітини-мішені). В одному варіанті реалізації винаходу «індивід» є людиною.

[0228] Анти-CD79b антитіло (наприклад, анти-CD79b/CD3 антитіло ТЗБ) відповідно до цього винаходу може бути застосоване, наприклад, у терапевтичних способах *in vitro*, *ex vivo* і *in vivo*. В одному аспекті винаходу пропонуються способи пригнічення росту або проліферації клітин, *in vivo* або *in vitro*, причому спосіб включає вплив на клітину анти-CD79b антитіла в умовах, що дозволяють зв'язування з CD79b. «Пригнічення росту або проліферації клітин» позначає сповільнення росту або проліферації клітин щонайменше на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% або 100% і включає загибель клітин. У деяких варіантах реалізації винаходу клітина є пухлинною клітиною. У деяких варіантах реалізації винаходу клітина є В-клітиною. У деяких варіантах реалізації винаходу клітина є ксенотрансплантатом, наприклад, як показано в описі.

[0229] В одному аспекті анти-CD79b антитіло (наприклад, анти-CD79b/CD3 антитіло ТЗБ) за винаходом застосовується для лікування або запобігання проліферативним розладам В-клітин. У деяких варіантах реалізації винаходу розлад клітинної проліферації пов'язаний із підвищеною експресією та/або активністю CD79b. Наприклад, у деяких варіантах реалізації винаходу, розлад проліферації В-клітин пов'язаний із підвищеною експресією CD79b на поверхні В-клітини. У деяких варіантах реалізації розлад проліферації В-клітин є пухлиною або раком. Приклади розладів проліферації В-клітин, які можна лікувати антитілами за винаходом, включають, але не обмежуючись цим, лімфому, неходжкінську лімфому (НХЛ), агресивну НХЛ, рецидивуючу агресивну НХЛ, рецидивуючу сповільнену НХЛ, рефрактерну НХЛ, рефрактерну сповільнену НХЛ, хронічний лімфоцитарний лейкоз (ХЛЛ), мілкоклітинну лімфоцитарну лімфому, лейкоз, волосатоклітинний лейкоз (ВКЛ), гострий лімфоцитарний лейкоз (ГЛЛ) і мантийноклітинну лімфому. У деяких варіантах будь-якого із розладів проліферації В-клітин, розлад проліферації В-клітин є резистентним до лікування анти-CD79b імунокон'югатом (наприклад, анти-CD79b MMAE імунокон'югатом).

[0230] В іншому аспекті винаходу пропонуються фармацевтичні препарати, що містять будь-яке з анти-CD79b антитіл (наприклад, анти-CD79b/CD3 антитіло ТЗБ), описаних у цьому документі, наприклад, для застосування в будь-якому із описаних вище терапевтичних способів. У одному варіанті реалізації винаходу фармацевтична композиція містить будь-яке із представлених у цьому документі анти-CD79b антитіл і фармацевтично прийнятний носій. У іншому варіанті реалізації винаходу фармацевтична композиція містить будь-яке з анти-CD79b антитіл (наприклад, анти-CD79b/CD3 антитіло ТЗБ), описаних у цьому документі, і щонайменше один додатковий терапевтичний агент, наприклад, як описано нижче.

[0231] В одному варіанті реалізації винаходу В-клітинні проліферативні захворювання включають, але не обмежуючись цим, лімфоми (наприклад, В-клітинні неходжкінські лімфоми (НХЛ)) і лімфоцитарний лейкоз. Такі лімфоми і лімфоцитарний лейкоз включають, наприклад: а) фолікулярні лімфоми, b) мілкоклітинні лімфоми з нерозщепленими ядрами/лімфому Беркітта (включаючи ендемічну лімфому Беркітта, спорадичну лімфому Беркітта і неберкіттовську лімфому), c) лімфоми маргінальної зони (включаючи позавузлову В-клітинну лімфому маргінальної зони (лімфоми лімфатичної тканини, пов'язаної із слизовою оболонкою, ЛЛТС), вузлову В-клітинну лімфому маргінальної зони і селезінкову лімфому маргінальної зони), d) мантийноклітинну лімфому (ЛМК), e) крупноклітинну лімфому (включаючи дифузну крупноклітинну лімфому В-клітин (ДККЛ), дифузну змішаноклітинну лімфому, імунобластну лімфому, первинну медіастинальну В-клітинну лімфому, ангіоцентричну лімфому-лімфому легених В-клітин), f) волосатоклітинний лейкоз, g) лімфоцитарну лімфому, макроглобулінемію Вальденстрема, h) гострий лімфоцитарний лейкоз (ГЛЛ), хронічний лімфоцитарний лейкоз (ХЛЛ)-мілкоклітинну лімфоцитарну лімфому (МЛЛ), В-клітинний пролімфоцитарний лейкоз, i) новоутворення клітин плазми, мієлому клітин плазми, множинну мієлому, плазмацитому, та/або j) хворобу Ходжкіна.

[0232] У деяких варіантах будь-якого із способів розлад проліферації В-клітин є раком. У деяких варіантах реалізації винаходу розлад проліферації В-клітин являє собою лімфому, неходжкінську лімфому (НХЛ), агресивну НХЛ, рецидивуючу агресивну НХЛ, рецидивуючу

сповільнену НХЛ, рефрактерну НХЛ, рефрактерну сповільнену НХЛ, хронічний лімфоцитарний лейкоз (ХЛЛ), мілкоклітинну лімфоцитарну лімфому, лейкоз, волосатоклітинний лейкоз (ВКЛ), гострий лімфоцитарний лейкоз (ГЛЛ) або мантийноклітинну лімфому. У деяких варіантах реалізації винаходу розлад проліферації В-клітин являє собою НХЛ, таку як уповільнена НХЛ та/або агресивна НХЛ. У деяких варіантах реалізації винаходу розлад проліферації В-клітин є уповільненою фолікулярною лімфомою або дифузною крупноклітинною В-клітинною лімфомою. У деяких варіантах будь-якого з розладів проліферації В-клітин, розлад проліферації В-клітин є резистентним до лікування анти-CD79b імунокон'югатом (наприклад, анти-CD79b MMAE імунокон'югатом).

[0233] Антитіла за винаходом можна застосовувати в терапії як монотерапію або в комбінації з іншими агентами. Наприклад, антитіло за винаходом можна вводити разом із щонайменше одним додатковим терапевтичним агентом та/або ад'ювантом. У деяких варіантах реалізації винаходу додатковий терапевтичний агент є цитотоксичним агентом, хіміотерапевтичним агентом або агентом, що пригнічує ріст. В одному з таких варіантів реалізації винаходу хіміотерапевтичний агент являє собою агент або комбінацію агентів, таких як, наприклад, циклофосфамід, адриаміцин, гідроксидаунорубіцин (доксорубіцин), вінкрестин (OncovinTM), преднізолон, схема циклофосфамід, гідроксидауноміцин, Онковін і преднізон/преднізолон (ЦГОП), схема циклофосфамід, гідроксидауноміцин і преднізон/преднізолон (ЦГП), схема циклофосфамід, вінкрестин і преднізон (ЦВП) або циклофосфамід, Онковін і преднізон (ЦОП) або імунотерапевтичні засоби, такі як анти-CD20 (наприклад, Rituxan®) або анти-VEGF (наприклад, Avastin®), причому комбінована терапія є придатною для лікування раку та/або В-клітинних розладів, таких як розлади проліферації В-клітин, включаючи лімфому, неходжкінську лімфому (НХЛ), агресивну НХЛ, рецидивуючу агресивну НХЛ, рецидивуючу сповільнену НХЛ, рефрактерну НХЛ, рефрактерну сповільнену НХЛ, хронічний лімфоцитарний лейкоз (ХЛЛ), мілкоклітинну лімфоцитарну лімфому, лейкоз, волосатоклітинний лейкоз (ВКЛ), гострий лімфоцитарний лейкоз (ГЛЛ) і мантийноклітинну лімфому. У інших варіантах реалізації винаходу, наприклад, антитіло згідно винаходу може вводитися разом із щонайменше одним додатковим терапевтичним агентом. У деяких варіантах додатковий терапевтичний агент є хіміотерапевтичним агентом, агентом, що пригнічує ріст, цитотоксичним агентом, агентом, що застосовується для радіотерапії, антиангіогенним агентом, апоптотичним агентом, антитубуліновим агентом або іншим агентом, таким як антагоніст рецептора епідермального фактора росту (EGFR) (наприклад, інгібітор тирозинкінази), інгібітором EGFR/HER1 (наприклад, ерлотиніб (TarcevaTM)), інгібітором тромбоцитарного фактора росту (наприклад, GleevecTM (імаїнібу мезилат)), інгібітором ЦОГ-2 (наприклад, целекоксиб), інтерфероном, цитокином, антитілом, що не належить до анти-CD3 антитіл за винаходом, таким як антитіло, що зв'язується з однією або більше із наступних мішеней ErbB2, ErbB3, ErbB4, PDGFR-бета, BlyS, APRIL, BCMA VEGF або рецептором(ами) VEGF, TRAIL/Apo2, або іншим біологічно активним або органічним хімічним агентом.

[0234] Крім того, у деяких варіантах реалізації винаходу способи можуть включати додаткову терапію. Додаткова терапія може бути радіаційною терапією, хірургічним лікуванням, хіміотерапією, генною терапією, ДНК терапією, вірусною терапією, РНК терапією, імунотерапією, трансплантацією кісткового мозку, нанотерапією, терапією моноклональним антитілом або комбінацією перерахованого. Додаткова терапія може проводитись у формі ад'ювантної або неoad'ювантної терапії. У деяких варіантах реалізації винаходу додаткова терапія полягає у введенні низькомолекулярного ферментного інгібітору або антиметастатичного агента. У деяких варіантах реалізації винаходу додаткова терапія полягає у введенні агентів, що обмежують побічний ефект (наприклад, агенти, призначені для зменшення частоти та/або тяжкості побічних ефектів лікування, такі як агенти проти нудоти і т.д.). У деяких варіантах реалізації винаходу додаткова терапія є променевою терапією. У деяких варіантах реалізації винаходу додаткова терапія є хірургічним лікуванням. У деяких варіантах реалізації винаходу додаткова терапія є комбінацією променевої терапії і хірургічного лікування. У деяких варіантах реалізації винаходу додаткова терапія є гама-опроміненням. У деяких варіантах реалізації винаходу додаткова терапія може полягати у роздільному введенні одного або декількох терапевтичних агентів, описаних вище.

[0235] У деяких варіантах будь-якого із способів, додатковий терапевтичний агент є глюкокортикоїдом. У деяких варіантах реалізації винаходу глюкокортикоїд вибраний з групи, що складається із дексаметазону, гідрокортизону, кортизону, преднізолону, преднізону, метилпреднізону, триамцинолону, параметазону, бетаметазону, флудрокортизону та їх фармацевтично прийнятних естерів, солей і їх комплексів. У деяких варіантах реалізації винаходу глюкокортикоїд є дексаметазоном. У деяких варіантах реалізації винаходу

глюкокортикоїд є фармацевтично прийнятним естером, сіллю або комплексом дексаметазону. У деяких варіантах реалізації винаходу, глюкокортикоїд є дексаметазоном.

[0236] У деяких варіантах будь-якого із способів додаткова терапія включає анти-CD20 антитіло. У деяких варіантах реалізації винаходу анти-CD20-антитіло є ритуксимабом. У деяких варіантах реалізації винаходу анти-CD20-антитіло є гуманізованим антитілом B-Ly1. У деяких варіантах реалізації винаходу гуманізоване B-Ly1 антитіло є обінітузумабом. У деяких варіантах реалізації винаходу анти-CD20 антитіло є офатумумабом, ублітуксимабом та/або ібритумомаб тіуксетаном.

[0237] У деяких варіантах будь-якого із способів додаткова терапія включає алкілувальний агент. У деяких варіантах реалізації винаходу алкілувальний агент являє собою 4-[5-[біс(2-хлоретил)аміно]-1-метилбензімідазол-2-іл]бутанову кислоту і її солі. У деяких варіантах реалізації винаходу алкілувальний агент є бендамустином.

[0238] У деяких варіантах будь-якого із способів додаткова терапія включає BCL-2. У деяких варіантах реалізації винаходу інгібітор BCL-2 являє собою 4-(4-{2-(4-хлорфеніл)-4,4-диметилциклогекс-1-ен-1-іл}метил}піперазин-1-іл)-N-(3-нітро-4-[тетрагідро-2H-піран-4-ілметил]аміно)феніл)сульфоніл)-2-(1H-піроло[2,3-b]піридин-5-ілокси)бензамід і його солі. У деяких варіантах реалізації винаходу інгібітор BCL-2 є венетоклаксом (CAS № 1257044-40-8).

[0239] У деяких варіантах будь-якого із способів, додаткова терапія включає інгібітор фосфоінозитид-3-кінази (PI3K). У деяких варіантах реалізації винаходу, інгібітор PI3K інгібує дельта ізоформу PI3K (тобто, P110δ). У деяких варіантах реалізації винаходу інгібітор PI3K являє собою 5-флуор-3-феніл-2-[(1S)-1-(7H-пурин-6-іламіно)пропіл]-4(3H)-хіназолінон і його солі. У деяких варіантах реалізації винаходу інгібітор PI3K є іделалізібом (CAS № 870281-82-6). У деяких варіантах реалізації винаходу інгібітор PI3K інгібує альфа і дельта ізоформи PI3K. У деяких варіантах реалізації винаходу інгібітор PI3K являє собою 2-{3-[2-(1-ізопропіл-3-метил-1H-1,2,4-триазол-5-іл)-5,6-дигідробензо[f]імідазо[1,2-d][1,4]оксазепін-9-іл]-1H-піразол-1-іл]-2-метилпропанамід і його солі.

[0240] У деяких варіантах будь-якого із способів, додаткова терапія включає інгібітор тирозинкінази Брутона (BTK). У деяких варіантах реалізації винаходу інгібітор BTK являє собою 1-[(3R)-3-[4-аміно-3-(4-феноксифеніл)-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл]піперидин-1-іл]проп-2-ен-1-он і його солі. У деяких варіантах реалізації винаходу інгібітор BTK є ібрутинібом (CAS № 936563-96-1).

[0241] У деяких варіантах будь-якого із способів додаткова терапія включає талідомід або його похідне. У деяких варіантах реалізації винаходу талідомід або його похідне являє собою (RS)-3-(4-аміно-1-оксо-1,3-дигідро-2H-ізоіндол-2-іл)піперидин-2,6-діон і його солі. У деяких варіантах реалізації винаходу талідомід або його похідне є лендалідомідом (CAS № 191732-72-6).

[0242] У деяких варіантах будь-якого із способів, додаткова терапія включає одне або більше із циклофосфаміду, доксорубіцину, вінкристину або преднізолону (ЦГОП). У деяких варіантах реалізації винаходу додаткова терапія включає анти-CD20-антитіло, описане вище (наприклад, GA-101 та/або Rituxan).

[0243] У деяких варіантах будь-якого із способів додаткова терапія включає одне або більше із циклофосфаміду, доксорубіцину або преднізолону (ЦГП). У деяких варіантах реалізації винаходу додаткова терапія додатково включає анти-CD20-антитіло, як описано вище (наприклад, GA-101 та/або Rituxan). У деяких варіантах реалізації винаходу додаткова терапія додатково включає кон'югат анти-CD79b антитіла і лікарського засобу. У деяких варіантах реалізації винаходу кон'югат анти-CD79b антитіла і лікарського засобу являє собою анти-CD79b-МС-vc-РАВ-ММАЕ. У деяких варіантах реалізації винаходу кон'югат анти-CD79b антитіла і лікарського засобу являє собою описаний у будь-якому із US 8088378 та/або US 2014/0030280, які включені до даного документу шляхом посилання в повному обсязі. У деяких варіантах реалізації винаходу кон'югат анти-CD79b антитіла і лікарського засобу є полутузумаб ведотином. У деяких варіантах будь-якого із розладів проліферації В-клітин, розлад проліферації В-клітин є резистентним до лікування анти-CD79b (наприклад, кон'югатом анти-CD79b антитіла і лікарського засобу ММАЕ). У деяких варіантах реалізації винаходу кон'югат анти-CD79b антитіла і лікарського засобу є полатузумаб ведотином.

[0244] У деяких варіантах будь-якого із способів додаткова терапія включає антагоніст зв'язування по осі PD-1. У деяких варіантах реалізації винаходу будь-якого із способів додаткова терапія включає антагоніст зв'язування з PD-1. У деяких варіантах реалізації винаходу будь-якого із способів додаткова терапія включає антагоніст зв'язування з PD-L1. У деяких варіантах реалізації винаходу будь-якого із способів додаткова терапія включає антагоніст зв'язування з PD-L2.

[0245] У деяких варіантах будь-якого із способів антитіло за винаходом (і будь-який додатковий терапевтичний агент) можуть бути введені будь-яким придатним способом, включаючи парентеральний, внутрішньолегеневий та інтраназальний, і, якщо це бажано для місцевого лікування, в осередок ураження. Парентеральні інфузії включають внутрішньом'язове, внутрішньовенне, внутрішньоартеріальне, внутрішньоочеревинне або підшкірне введення. Введення може здійснюватися будь-яким придатним способом, наприклад, за допомогою ін'єкцій, таких як внутрішньовенні або підшкірні ін'єкції, зокрема, в залежності від того, чи передбачено короточасне або постійне введення. До даного винаходу включені різноманітні схеми лікування, включаючи, але не обмежуючись цим, одне або більше введення у різних точках часу, введення болусу та імпульсну інфузію. У деяких варіантах реалізації даного винаходу введення є підшкірним.

[0246] Антитіла за даним винаходом можуть бути виготовлені, дозовані і введені за схемою лікування, відповідно до належної медичної практики. Фактори, що розглядаються в цьому контексті, включають конкретний розлад, що підлягає лікуванню, конкретного свавця, що підлягає лікуванню, клінічний стан окремого пацієнта, причину розладу, ділянку доставки агента, спосіб введення, розклад введення та інші фактори, відомі практикуючим лікарям. Антитіло не обов'язково складають з одним або більше агентами, які застосовуються на даний час для запобігання або лікування даного захворювання. Ефективна кількість таких інших агентів залежить від кількості антитіла, присутнього у препараті, типу розладу або лікування та інших факторів, описаних вище. Їх звичайно застосовують у тих же дозах і вводять такими ж способами, як описано у цьому документі, або в кількостях від близько 1 до 99% дози, описаної у цьому документі, або в будь-яких дозах і будь-яким способом, що є емпірично/клінічно визначеним як придатний.

[0247] Для профілактики або лікування захворювання відповідні дози антитіла за винаходом (при застосуванні для монотерапії або в комбінації з одним або декількома іншими додатковими терапевтичними агентами) будуть залежати від виду захворювання, що підлягає лікуванню, виду антитіла, тяжкості і характеру перебігу захворювання, від введення антитіла для профілактичних або терапевтичних цілей, попереднього лікування, клінічного анамнезу пацієнта, відповіді на антитіло і рішення лікуючого лікаря. Антитіло можна вводити пацієнту один або більше разів.

[0248] Як загальна пропозиція, терапевтично ефективна кількість анти-CD79b антитіла (наприклад, анти-CD79b/CD3 антитіла ТЗБ) для введення людині буде знаходитись у діапазоні, наприклад, від близько 0,01 до близько 100 мг/кг маси тіла пацієнта, в один або декілька прийомів. У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло застосовують у дозі від близько 0,01 до близько 45 мг/кг, від близько 0,01 до близько 40 мг/кг, від близько 0,01 до близько 35 мг/кг, від близько 0,01 до близько 30 мг/кг, від близько 0,01 до близько 25 мг/кг, від близько 0,01 до близько 20 мг/кг, від близько 0,01 до близько 15 мг/кг, від близько 0,01 до близько 10 мг/кг, від близько 0,01 до близько 5 мг/кг, або від близько 0,01 до близько 1 мг/кг на добу. В одному з варіантів реалізації винаходу анти-CD79b антитіло (наприклад, анти-CD79b/CD3 антитіло ТЗБ), описане в цьому документі, вводять людині в дозі близько 100 мг, близько 200 мг, близько 300 мг, близько 400 мг, близько 500 мг, близько 600 мг, близько 700 мг, близько 800 мг, близько 900 мг, близько 1000 мг, близько 1100 мг, близько 1200 мг, близько 1300 мг або близько 1400 мг в 1 день 21-денних циклів. Доза може бути введена в один прийом або в декілька прийомів (наприклад, 2 або 3 прийоми), наприклад, у вигляді інфузії. При повторному введенні протягом декількох днів або довше, в залежності від стану, лікування звичайно повинно продовжуватися до тих пір, поки не відбудеться бажаного пригнічення симптомів захворювання. Одна типова доза антитіла буде знаходитись у діапазоні від близько 0,05 мг/кг до близько 10 мг/кг. Таким чином, одна або більше доз близько 0,5 мг/кг, 2,0 мг/кг, 4,0 мг/кг або 10 мг/кг (або будь-яка їх комбінація) можуть вводитися пацієнту. Такі дози можна вводити періодично, наприклад, кожного тижня або кожні три тижні (наприклад, таким чином, що пацієнт одержує від близько двох до близько двадцяти, або, наприклад, близько шести доз анти-CD79b антитіла (наприклад, анти-CD79b/CD3 антитіла ТЗБ)). На початку можна вводити вищу навантажуючу дозу, з подальшим введенням однієї або більше нижчих доз. Прогрес вказаного лікування з легкістю контролюється за допомогою загальноприйнятих методик і аналізів.

Н. Промислові вироби

[0249] В іншому аспекті винаходу пропонується промисловий виріб, що містить матеріали, придатні для лікування, попередження та/або діагностики описаних вище розладів. Виріб включає ємність та етикетку або листок-вкладиш в упаковку на ємності або разом з нею. Придатні ємності включають, наприклад, бутлі, флакони, шприци, пакети для в/в розчинів і т.д. Ємності можуть бути виготовлені з різних матеріалів, таких як скло або пластик. Ємність містить

композицію, яка сама по собі або у поєднанні з іншим препаратом є ефективною з точки зору лікування, профілактики та/або діагностики стану, причому ємність може бути обладнана стерильним вхідним отвором (наприклад, ємність може бути пакетом для внутрішньовенного розчину або флаконом із пробкою, яку можна проколоти голкою для підшкірної ін'єкції).

Щонайменше один активний агент у композиції є антитілом згідно винаходу. На етикетці або листку-вкладиші в упаковку вказано, що композиція застосовується для лікування вибраного стану. Крім того, виріб може містити (а) першу ємність із композицією, що міститься в ній, яка містить антитіло за винаходом; і (b) другу ємність із композицією, що міститься в ній, яка містить додатковий цитотоксичний або інший терапевтичний засіб. Виріб у відповідності до наведеного варіанту реалізації цього винаходу може додатково містити листок-вкладиш, на якому вказано, що композиції можна застосовувати для лікування конкретного стану. В якості альтернативи або додатково, виріб може включати другу (або третю) ємність, що містить фармацевтично прийнятний буферний розчин, такий як бактеріостатична вода для ін'єкцій (БВІ), фосфатно-сольовий буфер, розчин Рінгера і розчин декстрози. Він може додатково містити інші матеріали, бажані з комерційної точки зору і з точки зору користувача, включаючи інші буферні розчини, розбавлювачі, фільтри, голки та шприци.

[0250] Необхідно розуміти, що будь-який з вищеописаних виробів може містити імунокон'югат за винаходом замість або на додаток до анти-CD79b антитіла.

III. ПРИКЛАДИ

[0251] Нижче наведені приклади способів і композицій за даним винаходом. Необхідно розуміти, що можуть бути здійснені різні інші варіанти реалізації винаходу, з урахуванням загального опису, наведеного вище.

Приклад 1

Матеріали і методи

A. Генерація моноклональних антитіл

[0252] Білок для імунізації мишей одержують шляхом тимчасової трансфекції векторів, що експресують Fc-мічений або His-мічений позаклітинний домен (ПКД) CD79b людини у клітинах CHO. Білки виділяють із трансфікованих клітинних супернатантів на колонках з білком A та ідентичність білка підтверджують шляхом N-кінцевого секвенування. Десять мишей Balb/c (Charles River Laboratories, Холістер, Каліфорнія) гіперімунізують рекомбінантним Fc-міченим або His-міченим ПКД CD79b людини. В-клітини мишей, що демонструють високі титри антитіл проти імуногену CD79b людини за даними прямого ТІФА і специфічне зв'язування з клітинами Ramos, зливають із клітинами мишачої мієломи (X63.Ag8.653; Американська Колекція Типових Культур, Роквіль, Меріленд), як було описано раніше (Hongo, J. S. et al., Hybridoma, 14:253-260 (1995); Kohler, G. et al., Nature, 256:495-497 (1975); Freund, Y. R. et al., J. Immunol., 129:2826-2830 (1982)). Через 10-12 днів супернатанти збирають і піддають скринінгу щодо продукування антитіл і зв'язування методом прямого ТІФА і СКАФ, як вказано вище. Позитивні клони, що демонструють найвище імунне зв'язування після другого циклу субклонування шляхом серійного розведення, розмножують і культивують для подальшої характеристики, включаючи специфічність по відношенню до CD79b людини і перехресну реактивність. Супернатанти, одержані від кожної лінії гібридоми, очищують за допомогою афінної хроматографії (рідинна експрес-хроматографія білків Pharmacia (ЖЕХБ); Pharmacia, Упсала, Швеція), як було описано раніше (Hongo, J. S. et al., Hybridoma, 14:253-260 (1995); Kohler, G. et al., Nature, 256:495-497 (1975); Freund, Y. R. et al., J. Immunol., 129:2826-2830 (1982)). Далі очищені препарати антитіл піддають стерильній фільтрації (розмір отворів 0,2 мкм; Nalgene, Рочестер, Нью-Йорк) і зберігають при 4°C в буферизованому фосфатом фізіологічному розчині (ФСБ).

B. Генерація ТЗБ

[0253] Антитіла ТЗБ одержують як IgG1 людини у вигляді повнорозмірних антитіл у форматі виступ-у-порожнину, як було описано раніше (Atwell et al. J. Mol. Biol. 270: 26-35, 1997). Напівантитіла експресують в E. coli або клітинах яєчника китайського хом'яка (CHO), очищують за допомогою афінної хроматографії на Білку A і відповідну пару напівантитіл відпалюють in vitro, як було описано раніше (Spiess et al. Nat. Biotechnol., 2013). Якщо продукування антитіл ТЗБ здійснюють у клітинах CHO, антитіло може містити мутацію з аглікозилюванням, наприклад, у положенні N297 (наприклад, N297G), таким чином, що антитіло N297ТЗБ буде варіантом із зниженою ефекторною функцією і буде нездатним ініціювати антитілозалежну клітинно-опосередковану цитотоксичність (АЗКЦ).

[0254] Після відпалу анти-CD79b/CD3 антитіла ТЗБ очищують методом хроматографії гідрофобних взаємодій (ХГВ) і характеризують за допомогою аналітичної гель-фільтрації, мас-спектрометрії та електрофорезу на поліакриламідному гелі. Очищені антитіла дають єдиний пік

(> 99% сигналу) при гель-фільтрації з менш ніж 0,2% агрегатів. Гомодимери визначають за допомогою мас-спектрометрії.

С. Афіність зв'язування

[0255] Афіність зв'язування для кожного із CD3/CD79b ТЗБ тестують за допомогою аналізу Біасоре або СКАФ. Якщо коротко, для аналізів зв'язування Біасоре, CD3δє людини іммобілізують на сенсорному чіпі Biacore Series S CM5 із застосуванням набору для амінного сполучення з Біасоре, а анти-CD79b/CD3 антитіла ТЗБ або їх Fab варіанти пропускають в потоці над чіпом. Для аналізів зв'язування СКАФ клітини ВЈАВ (для В-клітинних антигенів) або інші вказані клітинні лінії інкубують з різними концентраціями ТЗБ при 4°C протягом 30 хвилин, після чого клітини промивають та інкубують із другим антитілом (анти-hulgG-ФК; BD Bioscience) ще протягом 15 хвилин, після чого клітини знову промивають і готують для аналізу СКАФ.

Д. Аналізи загибелі В-клітин in vitro та активації Т-клітин

[0256] Згенеровані анти-CD79b/CD3 антитіла ТЗБ тестують щодо їх здатності спричинити загибель В-клітин та активацію цитотоксичних Т-клітин. Для таких аналізів МРК виділяють із суцільної крові здорових донорів за допомогою розділення на Ficoll. Якщо коротко, кров людини збирають у гепаринізовані шприци і МРК виділяють із застосуванням Leucosep (Greiner Bio-one, кат. № 227290P) і Ficoll Paque Plus (GE Healthcare Biosciences, кат. № 95038-168), як рекомендовано виробником. При необхідності Т-клітини CD4+ і CD8+ відокремлюють за допомогою наборів Miltenyi у відповідності до інструкцій виробника.

[0257] Клітини промивають середовищем RPMI, що містить 10% СТЕ, з додаванням GlutaMax (Gibco, кат. № 35050-061), пеніциліну і стрептоміцину (Gibco, кат. № 15140-122), і ~0,2 млн суспендованих клітин вміщують на 96-лунковий планшет з U-донними лунками. Клітини культивують в RPMI 1640 з додаванням 10% СТЕ (Sigma-Aldrich) при 37°C у стандартному зволоженому інкубаторі для культури клітин. Для аналізів загибелі клітин ВЈАВ 20000 клітин ВЈАВ інкубують з ефекторними клітинами у вигляді МРК людини або очищених Т-клітин у вказаних для аналізу співвідношеннях у присутності різних концентрацій антитіл ТЗБ протягом 24 годин, якщо не вказано інше. Для аналізів загибелі ендогенних В-клітин 200000 МРК людини інкубують з різними концентраціями анти-CD79b/CD3 антитіл ТЗБ протягом 24 годин, якщо не вказано інше.

[0258] Після культивування клітини промивають буферним розчином СКАФ (0,5% БСА, 0,05% натрій азиду у ФСБ). Потім клітини фарбують у буферному розчині СКАФ, промивають буферним розчином СКАФ і суспендують у 10 мкл буферного розчину СКАФ, що містить 1 мкг/мл пропідій йодиду. Дані реєструють на проточному цитометрі FACSCalibur та аналізують із застосуванням FlowJo. Живі В-клітини відсікають як PI-CD19+ або PI-CD20+ В-клітини за допомогою СКАФ, а абсолютну кількість клітин визначають за допомогою додавання гранул ФІТЦ до реакційної суміші як внутрішній контроль імпульсів. % загибелі клітин обчислюють на базі необробленого контролю ТЗБ. Активовані Т-клітини знаходять за допомогою поверхневої експресії CD69 і CD25 із застосуванням анти-CD69-ФІТЦ (BD, кат. №555530) і анти-CD25-РЕ (BD, кат. № 555432).

Д. Ефективність in vivo

[0259] 50 мишам SCID.bg підшкірно вводять у правий грудний сегмент 5 млн ВЈАВ-лус анти-CD79b-МС-vc-РАК-ММАЕ клітин резистентної моделі T1.1 X1 у збалансованому сольовому розчині Хенка (ССРХ) в об'ємі 0,2 мл на мишу (не більше 200 мкл) або суміш 5 млн ВЈАВ-лус анти-CD79b-МС-vc-РАК-ММАЕ клітин резистентної моделі T1.1 X1 і 10 млн МРК в ССРХ об'ємом 0,2 мл (не більше 200 мкл). Це дослідження є превентивним, тому інокуляцію та лікування проводять у 0 День.

[0260] У дослідженні було п'ять груп: 1) 5 млн ВЈАВ-лус анти-CD79b-МС-vc-РАК-ММАЕ резистентних моделі T1.1 X1, основа, щотижня х2, в/в; 2) 5 млн ВЈАВ-лус анти-CD79b-МС-vc-РАК-ММАЕ резистентних до моделі T1.1 X1, 0,5 мг/кг анти-CD79 ТЗБ, щотижня х2, в/в; 3) 5 млн резистентних до ВЈАВ-лус анти-CD79b-МС-vc-РАК-ММАЕ моделі T1.1 X1 + 10 x 10⁶ МРК (попередньо змішані), основа, щотижня х2, в/в; 4) 5 млн ВЈАВ-лус анти-CD79b-МС-vc-РАК-ММАЕ резистентних моделі T1.1 X1 + 10 x 10⁶ МРК (попередньо змішані), 0,5 мг/кг (анти-CD79 ТЗБ CD79b.A7 V14b/38E4v1), щотижня х2, в/в; 5) 5 млн резистентних ВЈАВ-лус анти-CD79b-МС-vc-РАК-ММАЕ моделі T1.1 X1, 8 мг/кг анти-CD79b ВЈАВ-LUC-МС-VC-РАК-ММАЕ, одноразово, в/в. МРК одержують з лейкоцитарної плівки донора, культивують протягом ночі в умовах без активації, вводять у вигляді суміші з клітинами ВЈАВ. Введення всіх препаратів здійснюють в/в, у хвостову вену, об'єм = 0,1 мл (не більше 200 мкл). Пухлини вимірюють 1-2 рази на тиждень. Вимірюють масу тіла 1-2 рази/тиждень до 14 дня після введення останньої дози.

1. Вибір плеча проти антигену CD79b анти-CD79b-ТЗБ

[0261] Одержані кон'югати антитіло-лікарський засіб (АЛС) (наприклад, гуманізоване анти-CD79b антитіло (гуманізоване SN8), кон'юговане з монометиллауристатином Е (ММАЕ) за допомогою розщеплюваного протеазою лінкера), які у клініці продемонстрували свою ефективність при лікуванні НХЛ. Див. патент США № 8088378 і Morschhauser et al., «4457 Updated Results of a Phase II Randomized Study (ROMULUS) of Polatuzumab Vedotin or Pinatuzumab Vedotin Plus Rituximab in Patients with Relapsed/Refractory Non-Hodgkin Lymphoma» 56th ASH Annual Meeting and Exposition: December 6-9, 2014.

[0262] На базі клінічного успіху анти-CD79b АЛС було вибрано гуманізоване антитіло SN8, в Т-клітиннозалежному біспецифічному (ТЗБ) форматі, для проведення високого потенціалу цитотоксичності Т-клітин з метою знищення пухлинних клітин. Див. патент США № 8088378, який включений до даного документу шляхом посилання в повному обсязі. Анти-CD3 (наприклад, UCHT1.v9; див. наприклад, Zhu et al. Int. J. Cancer 62:319-324 (1995))/анти-CD79b (наприклад, SN8.v28) біспецифічне антитіло виступ-і-порожнина (В&П) одержують, як описано вище. Однак, у аналізах загибелі ендогенних В-клітин із застосуванням двох різних донорів, як описано вище, спостерігалася слабка активність біспецифічного В&П UCHT1.v9/SN8.v28 з точки зору знищення клітин: EC_{50} в для аналізу загибелі клітин становило 357 нг/мл і 120 нг/мл.

[0263] Друге анти-CD3 (наприклад, UCHT1.V9)/анти-CD79b антитіло ТЗБ одержували із застосуванням 2F2 як плеча анти-CD79b антитіла. 2F2 продемонстрував перспективність *in vitro* як анти-CD79b АЛС. Див. наприклад, US20090068202, що включений шляхом посилання в повному обсязі. Крім того, CD79b плече антитіла SN8.v28 було модифіковане у спробі підвищити показники загибелі клітин (SN8.new (VH SEQ ID NO: 37 і VL SEQ ID NO: 38)). Як показано на Фіг. 1А (аналіз загибелі ендогенних В-клітин) і Фіг. 1В (аналіз загибелі клітин ВJAB), біспецифічні антитіла В&П SN8.v28/UCHT1.v9, біспецифічні антитіла В&П SN8.new/UCHT1.v9, а також біспецифічні антитіла В&П 2F2/UCHT1.v9 демонструють слабкі показники цитотоксичної активності відносно В-клітин.

[0264] Моноклональні анти-CD79b антитіла були одержані, як описано вище. Два із цих анти-CD79b антитіл (CD79b.F6 і CD79b.A7) були додатково випробувані у вигляді біспецифічних анти-CD79b/CD3 антитіл формату біс-Fab. Як проілюстровано на Фіг. 1С, в аналізі загибелі ендогенних В-клітин, біспецифічний біс-Fab CD79b.F6/UCHT1.v9 продемонстрував покращення показників загибелі клітин в порівнянні з біспецифічним В&П SN8.v28/UCHT1.v9 (EC_{50} 33 нг/мл в порівнянні з 189 нг/мл). Крім того, як показано на Фіг. 1С, в аналізі загибелі ендогенних В-клітин, біспецифічні біс-Fab CD79b.A7/UCHT1.v9 значно покращують показники загибелі клітин у порівнянні з будь-якими біспецифічними біс-Fab CD79b.F6/UCHT1.v9 або біспецифічними В&П SN8.v28/UCHT1.v9 (EC_{50} 12 нг/мл в порівнянні з 33 нг/мл і 189 нг/мл). Біспецифічні біс-Fab CD79b.A7/UCHT1.v9 далі вивчали щодо загибелі ендогенних В-клітин і активації CD8+ Т-клітин із застосуванням додаткових донорів. Як проілюстровано на Фіг. 2А і С, в аналізі загибелі ендогенних В-клітин, як описано вище, біспецифічний біс-Fab CD79b.A7/UCHT1.v9 у випадку двох різних донорів приводив до ефективної загибелі В-клітин з EC_{50} 7,0 нг/мл і 18 нг/мл, відповідно. В той же час, як проілюстровано на Фіг. 2В і D, в аналізі активації CD8+ Т-клітин, описаному вище, біспецифічний біс-Fab CD79b.A7/UCHT1.v9 приводить до ефективної активації Т-клітин, що підтверджується % CD69+ CD25+ Т-клітин в числі CD8+ Т-клітин, з EC_{50} 17 нг/мл і 17 нг/мл, відповідно.

[0265] Для того, щоб краще зрозуміти відмінність у загибелі В-клітин і активації Т-клітин різними плечима проти антигену CD79b у анти-CD79b/CD3 антитілах ТЗБ, аналізували властивості різних плечей проти антигену CD79b. В аналізі СКАФ з клітинами ВJAB за зв'язування з CD79b.A7 конкурував пептид ARSEDRYRNPKGSA SRIWQS (SEQ ID NO: 63) розміром 21 амінокислота, який відповідає NH_2 -кінцю huCD79b, але не пептид AKSEDLYPNPKGSA SRIWQS (SEQ ID NO: 64) розміром 21 амінокислота, який відповідає NH_2 -кінцю CD79b яванського макака (дані не показані). Це є аналогічним результатом 2F2 і SN8, описаним у Zheng et al. Mol. Cancer Ther. 8(10):2937-2947 (2009). Таким чином, епітоп на CD79b, схоже, не є відповідальним за відмінність у загибелі В-клітин і активації Т-клітин між SN8.v28/UCHT1.v9, 2F2/UCHT1.v9 і CD79.A7.

[0266] Додатково оцінювали афінність зв'язування одновалентного і двовалентного анти-CD79b антитіла для кращого розуміння їх внеску у загибель В-клітин, якщо він існує. Крім того, аналізували афінність зв'язування двовалентних анти-CD79b антитіл і біспецифічних анти-CD79b/CD3 антитіл із застосуванням клітин ВJAB. Первинні експерименти показали, що афінність зв'язування двовалентних анти-CD79b антитіл SN8.v28 з двома плечима із клітинами ВJAB в показниках EC_{50} , становить 0,04 мкг/мл, тоді як афінність зв'язування біспецифічних В&П (SN8.v28/UCHT1.v9) із клітинами ВJAB в показниках EC_{50} становить тільки 3,7 мкг/мл. Аналогічно, як проілюстровано на Фіг. 3А, афінність зв'язування двовалентних анти-CD79b

антитіл з двома плечима 2F2 з клітинами BJAB в показниках EC_{50} була значно вищою за афінність зв'язування біспецифічних В&П анти-CD79b/CD3 антитіл (SN8.v28/UCHT1.v9, SN8new/UCHT1.v9 і 2F2/UCHT.v9). Афінність зв'язування додаткових анти-CD79 антитіл, CD79b.F6 і CD79b.A7, аналізували у форматі двовалентного анти-CD79b антитіла з двома плечима, а також біс-Fab і біспецифічних В&П анти-CD79b/CD3 антитіл. Як проілюстровано на Фіг. 3В, афінність зв'язування двовалентного анти-CD79b антитіла з двома плечима CD79.A7 із клітинами BJAB у показниках EC_{50} становила 0,31 мкг/мл. Афінність зв'язування біспецифічного біс-Fab анти-CD79b/CD3 (CD79b.A7/UCHT1.v9) з клітинами BJAB у показниках EC_{50} була меншою, ніж для двовалентного анти-CD79b антитіла з двома плечима CD79.A7, але все ще була відносно високою і становила 1,4 мкг/мл. Афінність зв'язування двовалентного анти-CD79b антитіла з двома плечима CD79b F6 і біс-Fab біспецифічних В&П анти-CD79b/CD3 антитіл SN8.v28/UCHT1.v9 і CD79b.F6/UCHT1.v9, відповідно) з клітинами BJAB в показниках EC_{50} була значно нижчою. На базі цих даних, одновалентна афінність зв'язування корелює із ступенем виснаження ендогенних В-клітин і % загибелі В-клітин.

2. Гуманізація плеча проти антигену CD79b

[0267] Моноклональне антитіло CD79b.A7 було гуманізоване, як описано вище. Залишки пронумеровані відповідно до Kabat et al., Sequences of proteins of immunological interest, 5th Ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991).

[0268] Варіанти, сконструйовані в процесі гуманізації CD79b.A7, оцінювали у вигляді IgG. Домени VL і VH мишачого CD79b.A7 були вирівняні з VL капа II людини (VLK2) і консенсусними послідовностями підгрупи I VH людини (VH1). Гіперваріабельні ділянки мишачих антитіл були сконструйовані у вигляді акцепторних каркасів VLK2 і VH1. Зокрема, положення 24-34 (L1), 50-56 (L2) і 89-97 (L3) із домену μ CD79b.A7 були пересаджені на VLK2, і положення 26-35 (H1), 50-65 (H2) і 93-102 (H3) з домену VH μ CD79b A7 були пересаджені на VH1.

[0269] У цьому розділі афінність зв'язування антитіла визначали за допомогою BIAcore™ T100. Якщо коротко, чіпи BIAcore™ CM5 категорії «для досліджень» активують реагентами 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)карбодіімідом (ЕДК) і N-гідроксисукцинімідом (NHS), відповідно до інструкцій постачальника. CD79a людини, злитий з реагентами Fc на C-кінці, об'єднують із чіпами. Для кращого забезпечення реакцій одновалентного зв'язування, у кожній проточній кюветі здійснюють іммобілізацію низької щільності ~12 одиниць відповіді (ОВ). Для вимірювання уявної афінності антитіл, іммобілізують ~370 ОВ антигену. Групи поєднання, що не прореагували, блокують за допомогою 1 М етаноламіну. Для кінетичних вимірювань, триразові серійні розведення антитіла вводять інжекцією в буфері ФСБ-Т (0,05% поверхнево-активної речовини P20 у ФСБ) при 25°C і швидкості потоку 30 мкл/хв. 10 мМ розчин гліцину, рН 1,7, застосовують як буферний розчин регенерації при швидкості потоку 30 мкл/хв протягом 1 хвилини (K_{on}). Значення швидкості асоціації і швидкості дисоціації (K_{off}) обчислюють із застосуванням моделі 1:1 Ленгмюра (програму забезпечення BIAcore™ T100 Evaluation, версія 2.0). Рівноважну константу дисоціації (K_d) обчислюють, як співвідношення K_{off}/K_{on} .

[0270] Гуманізований CDR трансплантат CD79b.A7 (CD79b.A7.v1) не зв'язується із CD79b. Таким чином, були одержані додаткові гуманізовані варіанти, щоб оцінити внесок верн'єрних положень мишачого каркасу у зв'язування. Шість додаткових легких ланцюгів (VL1: пересаджені CDR + (Y36L), VL2: пересаджені CDR + (Y36L + L46C), VL3: пересаджені CDR + (I2V + Y36L + L46C), VL4: пересаджені CDR + (Y36L + L46S), VL5: пересаджені CDR + (I2V + Y36L + L46S), VL6: пересаджені CDR + (L46S)) і сім додаткових ланцюгів (VH1a: пересаджені CDR + (A93S), VH1b: пересаджені CDR + (R71V + A93S), VH1c: пересаджені CDR + (V67A + I69L + R71V + A93S), VH1d: пересаджені CDR + (V67A + I69L + R71V + T73K + A93S), VH1e: пересаджені CDR + (V67A + R71V + A93S), VH1f: пересаджені CDR + (I69L + R71V + A93S) і VH1g: пересаджені CDR + (V67A + I69L)) були сконструйовані і об'єднані, щоб згенерувати варіанти, наведені у Табл. 2. На базі афінності вказаних варіантів, Y36L і L46C в легкому ланцюзі, мабуть, є ключовими верн'єрними залишками миші. Несподівано, при заміні амінокислоти в положенні 46 на серин, щоб уникнути застосування вільного цистеїну, афінність варіантів з цією зміною різко покращувалася. У важкому ланцюзі, V67A, I69L, R71V і A93S також сприяли зв'язуванню з CD79b; однак R71V, схоже, виявився ключовим верн'єрним залишком миші на базі даного аналізу мутацій. Всі наведені значення афінності у Табл. 2 є значеннями уявної афінності на базі двовалентного зв'язування IgG із CD79b, іммобілізованим при низькій щільності, із приблизно одновалентним зв'язуванням. Див. Табл. 2 нижче.

Таблиця 2

| CD79b.A7 нМ | K2 трансплан- тат | VL1 | VL2 | VL3 | VL4 | VL5 | VL6 |
|---------------------|-------------------------------|------------|---------------|---------------|--------------|-------------|--------------|
| VH1 трансплантат | v1 Зв'язування відсутнє | v2 НПО | v3 320 нМ | | | | |
| VH1a | v4 НПО | v5 НПО | v6 3800 нМ | | | | |
| VH1b | v7 НПО | v8 НПО | v9 7050 нМ | | v27 8 нМ | | |
| VH1c | v10 НПО | v11 НПО | v12 20 нМ | v13 716 нМ | v14 5 нМ | v15 5 нМ | v26 23 нМ |
| VH1d | | | v16 117 нМ | v17 88 нМ | v18 4 нМ | v19 4 нМ | |
| VH1e | | | | | v20 8 нМ | | v23 20 нМ |
| VH1f | | | | | v21 8 нМ | | v24 39 нМ |
| VH1g | | | | | v22 16 нМ | | v25 68 нМ |

[0271] Афініть зв'язування додатково тестували за допомогою аналізу СКАФ. Клітини BJAB інкубували з різними анти-CD79b антитілами протягом 30 хвилин на льоду. Після закінчення інкубації клітини промивали льодяним буфером СКАФ (1 x ФСБ, 2% БСА, 2 мМ ЕДТА), з подальшою інкубацією з міченими ФЕ мишачими антитілами проти IgG людини (BD bioscience № 555787). Аналіз методом проточної цитометрії проводили на аналізаторі BD LSR. Показники двовалентного зв'язування виражали як середню інтенсивність флуоресценції (СІФ) флуорофору ФЕ. Зв'язування chCD79b.A7, huCD79b.A7.v12 і huCD79b.A7.v14 з клітинами BJAB, що містять люциферазу, відбувалося із EC₅₀ 124 нг/мл, 400 нг/мл і 68 нг/мл, відповідно.

[0272] Афініть зв'язування гуманізованого CD79.A7.v14 в одновалентному і двовалентному форматах вивчали, як описано вище. Як проілюстровано на Фіг. 3С, значення EC₅₀ для одновалентного CD79.A7.v14 (у форматі ТЗБ В&П CD79.A7.v14/40G5c) становить 220 нг/мл, тоді як EC₅₀ двохвалентного CD79A7.v14 з двома плечима становить 46,8 нг/мл.

[0273] Гуманізоване антитіло CD79.A7.v14 випробовували в умовах термічного стресу (40°C, pH 5,5, 2 тижні) і аналізу із застосуванням 2,2'-азобіс(2-амідинопропан)гідрохлориду (AAPG). Зразки піддавали термічному стресу, щоб імітувати стабільність протягом терміну зберігання продукту. Буферний розчин у зразках замінюють на 20 мМ розчин гістидину ацетату, 240 мМ сахарози, pH 5,5 і розбавляють до концентрації 1 мг/мл. Один мілілітр зразка піддають стресу при 40 С протягом 2 тижнів, а другий зберігають при -70 °C як контроль. Потім обидва зразки розщеплюють із застосуванням трипсину для одержання пептидів, які можуть бути проаналізовані методом рідинної хроматографії (РХ)-мас-спектрометрії (МС). Для кожного пептиду у зразку, час утримування реєструють за даними РХ, а точну масу з високим розрізненням та інформацією щодо фрагментації іона пептиду (інформація про послідовність амінокислот) реєструють за допомогою МС. Хроматограми екстрагованих іонів (ХЕС) одержують для пептидів, які представляють інтерес (нативні і модифіковані пептидні іони) з наборів даних у вікні ± 10 мд, причому піки інтегрують для визначення площі. Відносний відсоток модифікації для кожного зразка обчислюють шляхом поділу (площі модифікованого пептиду) на (площу модифікованого пептиду плюс площу нативного пептиду) і множення на 100.

[0274] Як було показано, W33 у CDR-H1 і M62 у CDR-H2 CD79b.A7.v14 були чутливими до окиснення (окиснення W33 збільшується на 73,7%, а окиснення M62 збільшується на 64,8%). Варіанти антитіл CD79b.A7.v14 були вивчені щодо визначення можливості зниження потенціалу окиснення, без впливу на зв'язування із huCD79b. У варіанті CD79b.A7.v14b дані потенційні проблеми окиснення були усунені шляхом модифікації вказаних ділянок для відповідності консенсусному VH1 людини (W33Y, M62K, K64Q і D65G). Дані зміни не впливають на афініть зв'язування з CD79b. Дані не показані.

3. Вибір плеча анти-CD3-ТЗБ проти антигену CD79b

[0275] Проаналізований вплив спарювання CD3-зв'язуючого домену на ефективність анти-CD79b антитіла ТЗБ з точки зору загибелі В-клітин. Антитіло анти-CD79b.A7.v14 випробовували в комбінації з різними зв'язуючими доменами анти-CD3 антитіла, включаючи 40G5c і 38E4v1. 200000 МПК інкубують у присутності або за відсутності анти-CD79b/CD3 антитіла ТЗБ протягом 48 годин. Відсоток загибелі В-клітин на Фіг. 5А обчислений наступним чином: (кількість живих В-клітин без ТЗБ – кількість живих клітин із ТЗБ)/(кількість живих В-клітин без ТЗБ) * 100. Активацію Т-клітин, проілюстровану на Фіг. 5В, вимірювали шляхом гейтування по клітинам CD69⁺/CD25⁺ в популяції CD8⁺ Т-клітин. Як проілюстровано на Фіг. 5А і В, В&П CD79b.A7.v14/40G5c продемонстрували слабку активацію CD8⁺ Т і низький відсоток загибелі ендogenous В-клітин. У додаткових експериментах (дані не показані), анти-CD79b/CD3 антитіло ТЗБ (В&П CD79b.A7.v14/40G5c) продемонструвало EC₅₀ від 1,1 до 2,3 нг/мл для активації CD8⁺ Т, і EC₅₀ 2658 і 288 нг/мл для загибелі ендogenous В-клітин з використанням двох різних донорів. На відміну від цього, як проілюстровано на Фіг. 5А і В, анти-CD79b/CD3 антитіло ТЗБ (В&П CD79b.A7.v14/38E4v1) продемонструвало значно кращу активацію CD8⁺ Т-клітин і відсоток загибелі ендogenous В-клітин з EC₅₀ 15 нг/мл для загибелі ендogenous В-клітин, в порівнянні з В&П CD79b.A7.v14/40G5c. У додаткових експериментах (дані не показані), анти-CD79b/CD3 антитіло ТЗБ (В&П CD79b.A7.v14/40G5c) продемонструвало EC₅₀ 401, 14, 1,5, 10, 12 і 16 нг/мл для загибелі ендogenous В-клітин з використанням шести різних донорів.

[0276] Додатково, активність анти-CD79b/CD3 антитіла ТЗБ (В&П CD79b.A7.v14/40G5c) з точки зору загибелі В-клітин і активації Т-клітин була вивчена на клітинних лініях BJAB і WSU-DLCL2, як описано вище і в позначеннях до Фіг. 6. Як проілюстровано на Фіг. 6А і В, анти-CD79b/CD3 антитіло ТЗБ (В&П CD79b.A7.v14/40G5c) продемонструвало значну активацію CD8⁺ Т і відсоток загибелі В-клітин з EC₅₀ 85 нг/мл для загибелі В-клітин BJAB і 82 нг/мл для загибелі В-клітин WSU-DLCL2. Значення EC₅₀ для активації CD8⁺ Т-клітин у випадку В-клітин BJAB і WSU-DLCL2 становило 18 і 39 нг/мл, відповідно.

[0277] Активність анти-CD79b/CD3 антитіла ТЗБ (В&П CD79b.A7.v14b/40G5c) з точки зору здатності спричиняти загибель В-клітин випробовували на різних клітинних лініях, як описано на Фіг. 7А-В. Клітинна лінія НТ являє собою клітини, що не експресують CD79b. Відсоток загибелі В-клітин обчислюють наступним чином: (кількість живих В-клітин без ТЗБ – кількість живих В-клітин із ТЗБ)/(кількість живих В-клітин без ТЗБ) * 100. Як проілюстровано на Фіг. 7А, значення EC₅₀ на кривій «доза-відповідь» загибелі В-клітин для клітин BJAB, WSU-DLCL2 і OCI-LY-19 становить 8,87, 2,63 і 17,41 нг/мл для загибелі В-клітин OCI-Ly-19, BJAB і WSU-DLCL2, відповідно. Фіг. 7В ілюструє значну загибель В-клітин при концентрації анти-CD79b/CD3 антитіла ТЗБ (В&П CD79b.A7.v14b/38E4v1) 5000 нг/мл на численних клітинних лініях (два екземпляри, середнє значення ± стандартне відхилення (СВ)).

[0278] Варіююча ефективність одержаних біспецифічних антитіл ТЗБ проти CD3 і CD79b підкреслює критичний і непередбачуваний внесок обох плечей антитіла в генерацію типового ТЗБ, що володіло б високою ефективністю.

4. Ефективність *in vitro* та *in vivo* проти резистентних до анти-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE В-клітин

[0279] Цитотоксичну активність анти-CD79b/CD3 антитіл ТЗБ (CD79b.A7.v14b/38E4v1) відносно В-клітин *in vitro* і *in vivo* додатково випробовували на резистентних до анти-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE В-клітинах. Варіанти клітин BJAB (BJAB-CD79b ADC-R T1.1 і BJAB-SN8v28vcE CD79b ADC-R T1.2) були одержані з нечутливих ксенотрансплантатів пухлин BJAB у резистентних до анти-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE В-клітин лікованих мишей. Як проілюстровано на Фіг. 8А, анти-CD79b/CD3 ТЗБ (CD79b.A7.v14b/38E4v1) було високоефективним по відношенню до BJAB, як і анти-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE на резистентних BJAB клітинах, спричиняючи загибель клітин *in vitro*. Крім того, як проілюстровано на Фіг. 8В, анти-CD79b/CD3 антитіло ТЗБ (CD79b.A7.v14b/38E4v1) запобігає росту резистентних до анти-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE пухлин BJAB *in vivo*.

[0280] Хоча вищеописаний винахід був описаний з певною мірою детальності шляхом ілюстрацій і прикладів з метою ясності розуміння, опис і приклади не слід розглядати як обмежуючі об'єм винаходу. Вміст всіх джерел патентної і наукової літератури, процитованих у цьому документі, включений шляхом посилання в повному обсязі.

| НАЗВА | ПОСЛІДОВНІСТЬ | SEQ ID NO |
|--|--|-----------|
| Прекурсор CD79b людини; обліковий номер NP_000617.1; сигнальна послідовність амінокис-лоти 1–28 | RFIARKRGFT VKMHCYMNSA SGNVSWLWKQ EMDENPQQLK LEKGRMEESQ NESLATLTIQ GIRFEDNGIY FCQQKCNNTS EVYQGCSTEL RVMGFSTLAQ LKQRNTLKDG IIMIQTLII LFIIVPIFLL LDKDDSKAGM EEDHTYEGLD IDQTATYEDI VTLRTGEVKW SVGEHPGQE | 1 |
| Зрілий CD79b людини, без сигнальної послідовності; амінокислоти 29–229 | AR SEDRYRNPKG SACSRIWQSP RFIARKRGFT VKMHCYMNSA SGNVSWLWKQ EMDENPQQLK LEKGRMEESQ NESLATLTIQ GIRFEDNGIY FCQQKCNNTS EVYQGCSTEL RVMGFSTLAQ LKQRNTLKDG IIMIQTLII LFIIVPIFLL LDKDDSKAGM EEDHTYEGLD IDQTATYEDI VTLRTGEVKW SVGEHPGQE | 2 |
| CD79b.A7, CD79b.A7.v14 CD79b.A7.v15 CD79b.A7.v18 CD79b.A7.v19 CD79b.A7.v20 CD79b.A7.v21 HVR-H1 | TYWMN | 3 |
| CD79b.A7.v14b HVR-H1 | TYYMN | 4 |
| Консенсусний HVR-H1 | TYX ₁ MN, причому X ₁ являє собою W або Y | 5 |
| CD79b.A7, CD79b.A7.v14 CD79b.A7.v15 CD79b.A7.v18 CD79b.A7.v19 CD79b.A7.v20 CD79b.A7.v21 HVR-H2 | MIDPSDSETHYNQMFKD | 6 |
| CD79b.A7.v14b HVR-H2 | MIDPSDSETHYNQKFQG | 7 |
| Консенсусний HVR-H2 | MIDPSDSETHYNQX ₂ FX ₃ X ₄ , причому X ₂ являє собою M або K, X ₃ являє собою K або Q, та X ₄ являє собою D або G. | 8 |
| CD79b.A7, CD79b.A7.v14 CD79b.A7.v14b CD79b.A7.v15 CD79b.A7.v18 CD79b.A7.v19 CD79b.A7.v20 CD79b.A7.v21 HVR-H3 | SLAF | 9 |
| CD79b.A7, CD79b.A7.v14 CD79b.A7.v14b CD79b.A7.v15 CD79b.A7.v18 CD79b.A7.v19 CD79b.A7.v20 CD79b.A7.v21 HVR-L1 | KSSQSLLSDSGKTYLN | 10 |

| | | |
|--|--|----|
| CD79b.A7, CD79b.A7.v14 CD79b.A7.v14b CD79b.A7.v15 CD79b.A7.v18 CD79b.A7.v19 CD79b.A7.v20 CD79b.A7.v21 HVR-L2 | LVSKLDS | 11 |
| CD79b.A7, CD79b.A7.v14 CD79b.A7.v14b CD79b.A7.v15 CD79b.A7.v18 CD79b.A7.v19 CD79b.A7.v20 CD79b.A7.v21 HVR-L3 | WQGTHFPQT | 12 |
| Варіабельна ділянка важкого ланцюга K2H1 (V _H) | EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYIHWVRQAPGQGL EWIGW INPGSGNTNYAQKFQGRVTITRDTSTSTAYLELSSLRSEDТАVYYCA RFDYW GQGTЛTVSS | 13 |
| Варіабельна ділянка легкого ланцюга K2H1 (V _L) | DIVMTQTPLSLPVTPGQPASISCRSSQSLHSSGNTYLDWYLQKPG QSPQLL IYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQAИQ FPFTFG QGTKVEIK | 14 |
| CD79b.A7 V _H | QVQLQQPGVELVRPGASVKLSCKASGYTFTTYWMNWVRQRPQG GLDWI GMIDPSDSETHYNQMFKDKATLTVDKSSSTAYIQLNSLTSEDSAVY YCSRS LAFWGQGTЛTVSA | 15 |
| CD79b.A7 V _L | DVVMТQTPLTSLVTIGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPQ QSPKCL IYLVSKLDSGVDPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGYYCWWQGTН FPQTF GGGTKLEIK | 16 |
| CD79b.A7. v14 V _H | EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYWMNWVRQAPGQ GLEWIG MIDPSDSETHYNQMFKDRATLTVDТSTSTAYLELSSLRSEDТАVYY CSRSL AFWGQGTЛTVSS | 17 |
| CD79b.A7. v14 V _L | DIVMTQTPLSLPVTPGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQKPG QSPQSL IYLVSKLDSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWWQGTН FPQTF GQGTKVEIK | 18 |
| CD79b.A7. v14b V _H | EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYMNWVRQAPGQG LEWIGM IDPSDSETHYNQKFQGRATLTVDТSTSTAYLELSSLRSEDТАVYYC SRSLAF WGQGTЛTVSS | 19 |
| CD79b.A7. v14b V _L | DIVMTQTPLSLPVTPGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQKPG QSPQSLI YLVSKLDSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWWQGTН FPQTFG QGTKVEIK | 20 |

| | | |
|---------------------------------|---|----|
| CD79b.A7. v15 V _H | EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYWMNWVRQAPGQ GLEWIG MIDPSDSETHYNQMFKDRATLTVDSTSTAYLELSSLRSEDVAVYY CSRSLA FWGQGTLVTVSS | 21 |
| CD79b.A7. v15 V _L | DVVMQTPLSLPVTPGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQKPG QSPQSL IYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTH FPQTFG QGTKVEIK | 22 |
| CD79b.A7. v18 V _H | EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYWMNWVRQAPGQ GLEWIGM IDPSDSETHYNQMFKDRATLTVDKSTSTAYLELSSLRSEDVAVYYC SRSLAFW GQGTLVTVSS | 23 |
| CD79b.A7. v18 V _L | DIVMTQTPLSLPVTPGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQKPG QSPQSLI YLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTH FPQTF GQGTKVEIK | 24 |
| CD79b.A7. v19 V _H | EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYWMNWVRQAPGQ GLEWIG MIDPSDSETHYNQMFKDRATLTVDKSTSTAYLELSSLRSEDVAVYY CSRSLA FWGQGTLVTVSS | 25 |
| CD79b.A7. v19 V _L | DVVMQTPLSLPVTPGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQKPG QSPQS LIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGT HFPQTF GQGTKVEIK | 26 |
| CD79b.A7. v20 V _H | EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYWMNWVRQAPGQ GLEWIG MIDPSDSETHYNQMFKDRATITVDSTSTAYLELSSLRSEDVAVYYC SRSL AFWGQGTLVTVSS | 27 |
| CD79b.A7.v20 V _L | DIVMTQTPLSLPVTPGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQKPG QSPQSL IYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTH FPQTF GQGTKVEIK | 28 |
| CD79b.A7.v21 V _H | EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYWMNWVRQAPGQ GLEWI GMIDPSDSETHYNQMFKDRVTLTVDSTSTAYLELSSLRSEDVAVY YCSR SLAFWGQGTLVTVSS | 29 |
| CD79b.A7.v21 V _L | DIVMTQTPLSLPVTPGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQKPG QSPQ SLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQG THFP QTFGQGTKVEIK | 30 |
| SN8.new HVR-H1 | SYWIE | 31 |
| SN8.new HVR-H2 | EILPGGGDTNYNEIFKG | 32 |
| SN8.new HVR-H3 | RVPIRLDY | 33 |
| SN8.new HVR-L1 | KASQSVDDYDGD SFLN | 34 |
| SN8.new HVR-L2 | AARKLGR | 35 |

| | | |
|------------------------|---|----|
| SN8.new HVR-L3 | QQSNEDPLT | 36 |
| SN8.new V _H | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSSYWIEWVRQAPGKG LEWVGEI LPGGGDTNYNEIFKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCT RRVPIRL DYWGQGTLVTVSS | 37 |
| SN8.new V _L | DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQSVDDYDGDSTFLNWDYQKPG KAPKLL IYAARKLGRGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSNE DPLTFG QGTEVEIK | 38 |
| 40G5c HVR-H1 | NYIIH | 39 |
| 40G5c HVR-H2 | WIYPGDGNTKYNEKFKG | 40 |
| 40G5c HVR-H3 | DSYSNYYFDY | 41 |
| 40G5c HVR-L1 | KSSQSLNLSRTRKNYLA | 42 |
| 40G5c HVR-L2 | WASTRES | 43 |
| 40G5c HVR-L3 | TQSFILRT | 44 |
| 38E4v1 HVR-H1 | SYIIH | 45 |
| 38E4v1 HVR-H2 | WIYPENDNTKYNEKFKD | 46 |
| 38E4v1 HVR-H3 | DGYSRYYFDY | 47 |
| 38E4v1 HVR-L1 | KSSQSLNLSRTRKNYLA | 48 |
| 38E4v1 HVR-L2 | WTSTRKS | 49 |
| 38E4v1 HVR-L3 | KQSFILRT | 50 |
| UCHT1v9 HVR-H1 | GYTMN | 51 |
| UCHT1v9 HVR-H2 | LINPYKGVSTYNQKFKD | 52 |
| UCHT1v9 HVR-H3 | SGYYGDSDWYFDV | 53 |
| UCHT1v9 HVR-L1 | RASQDIRNYLN | 54 |
| UCHT1v9 HVR-L2 | YTSRLES | 55 |
| UCHT1v9 HVR-L3 | QQGNTLPWT | 56 |
| 40G5c V _H | EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYIIHWVRQAPGQGL EWIGWIY PGDGNTKYNEKFKGRATLTADTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCAR DSYSNYY FDYWQGTLVTVSS | 57 |
| 40G5c V _L | DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNLSRTRKNYLAWDYQKPG GQPPKL LIYWASTRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCTQSFI LRTFGQ GTEVEIK | 58 |
| 38E4v1 V _H | EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTSYIIHWVRQAPGQGL EWIGWIY PENDNTKYNEKFKDRVITITADTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCARD GYSRY FDYWQGTLVTVSS | 59 |

| | | |
|------------------------|--|----|
| 38E4v1 V _L | DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNSRTRKNYLAWYQQKP GQSPKLLI YWTSTRKSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCKQSFIL RTFGQGT KVEIK | 60 |
| UCHT1v9 V _H | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKD LEWVAL INPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDKSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYC ARSGYY GDSDWYFDVWGQGTLLTVSS | 61 |
| UCHT1v9 V _L | DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKL LIYYTSR LESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTF GQGTKLELK | 62 |
| Пептид 1 | ARSEDYRNPKGSAKSRIWQS | 63 |
| Пептид 2 | AKSEDLYPNPKGSACSRIWQS | 64 |

ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

<110> GENENTECH, INC. C COABT.

<120> АНТИ-CD79В АНТИТІЛА І СПОСОБИ ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ

<130> P32464-WO

<140>

<141>

<150> 62/088,487

<151> 2014-12-05

<160> 64

<170> PatentIn версії 3.5

<210> 1

<211> 179

<212> Білок

<213> Homo sapiens

<400> 1

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Arg | Phe | Ile | Ala | Arg | Lys | Arg | Gly | Phe | Thr | Val | Lys | Met | His | Cys | Tyr |
| 1 | | | | | 5 | | | | 10 | | | | | 15 | |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Asn | Ser | Ala | Ser | Gly | Asn | Val | Ser | Trp | Leu | Trp | Lys | Gln | Glu | Met |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Glu | Asn | Pro | Gln | Gln | Leu | Lys | Leu | Glu | Lys | Gly | Arg | Met | Glu | Glu |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ser | Gln | Asn | Glu | Ser | Leu | Ala | Thr | Leu | Thr | Ile | Gln | Gly | Ile | Arg | Phe |
| | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Glu | Asp | Asn | Gly | Ile | Tyr | Phe | Cys | Gln | Gln | Lys | Cys | Asn | Asn | Thr | Ser |
| 65 | | | | | 70 | | | | | 75 | | | | | 80 |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Glu | Val | Tyr | Gln | Gly | Cys | Gly | Thr | Glu | Leu | Arg | Val | Met | Gly | Phe | Ser |
| | | | 85 | | | | | | 90 | | | | | 95 | |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Thr | Leu | Ala | Gln | Leu | Lys | Gln | Arg | Asn | Thr | Leu | Lys | Asp | Gly | Ile | Ile |
| | | 100 | | | | | | 105 | | | | | 110 | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Ile | Gln | Thr | Leu | Leu | Ile | Ile | Leu | Phe | Ile | Ile | Val | Pro | Ile | Phe |
| | | 115 | | | | | | 120 | | | | 125 | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Leu | Leu | Leu | Asp | Lys | Asp | Asp | Ser | Lys | Ala | Gly | Met | Glu | Glu | Asp | His |
| | | 130 | | | | 135 | | | | | 140 | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Thr | Tyr | Glu | Gly | Leu | Asp | Ile | Asp | Gln | Thr | Ala | Thr | Tyr | Glu | Asp | Ile |
| 145 | | | | | 150 | | | | | 155 | | | | | 160 |

Val Thr Leu Arg Thr Gly Glu Val Lys Trp Ser Val Gly Glu His Pro
165 170 175

Gly Gln Glu

<210> 2

<211> 201

<212> Билор

<213> Homo sapiens

<400> 2

Ala Arg Ser Glu Asp Arg Tyr Arg Asn Pro Lys Gly Ser Ala Cys Ser
1 5 10 15

Arg Ile Trp Gln Ser Pro Arg Phe Ile Ala Arg Lys Arg Gly Phe Thr
20 25 30

Val Lys Met His Cys Tyr Met Asn Ser Ala Ser Gly Asn Val Ser Trp
35 40 45

Leu Trp Lys Gln Glu Met Asp Glu Asn Pro Gln Gln Leu Lys Leu Glu
50 55 60

Lys Gly Arg Met Glu Glu Ser Gln Asn Glu Ser Leu Ala Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Ile Arg Phe Glu Asp Asn Gly Ile Tyr Phe Cys Gln Gln
85 90 95

Lys Cys Asn Asn Thr Ser Glu Val Tyr Gln Gly Cys Gly Thr Glu Leu
100 105 110

Arg Val Met Gly Phe Ser Thr Leu Ala Gln Leu Lys Gln Arg Asn Thr
115 120 125

Leu Lys Asp Gly Ile Ile Met Ile Gln Thr Leu Leu Ile Ile Leu Phe
130 135 140

Ile Ile Val Pro Ile Phe Leu Leu Leu Asp Lys Asp Asp Ser Lys Ala
145 150 155 160

Gly Met Glu Glu Asp His Thr Tyr Glu Gly Leu Asp Ile Asp Gln Thr
165 170 175

Ala Thr Tyr Glu Asp Ile Val Thr Leu Arg Thr Gly Glu Val Lys Trp
180 185 190

Ser Val Gly Glu His Pro Gly Gln Glu
195 200

```

<210> 3
<211> 5
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка = "Опис штучної послідовності: синтетичний
        пептид"

<400> 3
Thr Tyr Trp Met Asn
1           5

<210> 4
<211> 5
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка = "Опис штучної послідовності: синтетичний
        пептид"

<400> 4
Thr Tyr Tyr Met Asn
1           5

<210> 5
<211> 5
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний
        пептид»

<220>
<221> ВАРИАНТ
<222> (3)..(3)
<223> /заміна = «Tyr"

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(5)
<223> /примітка = "Варіантний залишок, наведений у послідовності,
        не має переваг у порівнянні з наведеним в анотаціях
        до варіантної позиції"

<400> 5
Thr Tyr Trp Met Asn
1           5

<210> 6
<211> 17
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

```

```

<220>
<221> джерело
<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний
пептид»

<400> 6
Met Ile Asp Pro Ser Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Met Phe Lys
1           5           10           15

Asp

<210> 7
<211> 17
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний
пептид»

<400> 7
Met Ile Asp Pro Ser Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe Gln
1           5           10           15

Gly

<210> 8
<211> 17
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний
пептид»

<220>
<221> ВАРИАНТ
<222> (14)..(14)
<223> /заміна = «Lys"

<220>
<221> ВАРИАНТ
<222> (16)..(16)
<223> /заміна = «Gln"

<220>
<221> ВАРИАНТ
<222> (17)..(17)
<223> /заміна = «Gly"

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(17)
<223> /примітка = «Варіантний залишок, наведений у послідовності,

```

не має переваг у порівнянні з наведеним в анотаціях до варіантної позиції"

<400> 8
Met Ile Asp Pro Ser Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Met Phe Lys
1 5 10 15

Asp

<210> 9
<211> 4
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний пептид»

<400> 9
Ser Leu Ala Phe
1

<210> 10
<211> 16
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний пептид»

<400> 10
Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn
1 5 10 15

<210> 11
<211> 7
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний пептид»

<400> 11
Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser
1 5

<210> 12
<211> 9
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний

пептид»

<400> 12
 Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Gln Thr
 1 5

<210> 13
 <211> 112
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <221> джерело
 <223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний поліпептид»

<400> 13
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 100 105 110

<210> 14
 <211> 112
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <221> джерело
 <223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний поліпептид»

<400> 14
 Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30

Ser Gly Asn Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala
85 90 95

Ile Gln Phe Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 15

<211> 113

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело

<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний поліпептид»

<400> 15

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Val Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Asp Trp Ile
35 40 45

Gly Met Ile Asp Pro Ser Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Met Phe
50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Ile Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ser Arg Ser Leu Ala Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
100 105 110

Ala

<210> 16
 <211> 112
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний поліпептид»

 <400> 16
 Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Val Thr Ile Gly
 1 5 10 15

 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

 Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

 Pro Lys Cys Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60

 Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80

 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
 85 90 95

 Thr His Phe Pro Gln Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

 <210> 17
 <211> 113
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний поліпептид»

 <400> 17
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
 20 25 30

 Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

 Gly Met Ile Asp Pro Ser Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Met Phe
 50 55 60

Lys Asp Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ser Arg Ser Leu Ala Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
100 105 110

Ser

<210> 18

<211> 112

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело

<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний поліпептид»

<400> 18

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Ser Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
85 90 95

Thr His Phe Pro Gln Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 19

<211> 113

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело

<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний поліпептид»

<400> 19

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
20 25 30

Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Met Ile Asp Pro Ser Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ser Arg Ser Leu Ala Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
100 105 110

Ser

<210> 20

<211> 112

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело

<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний поліпептид»

<400> 20

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Ser Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
85 90 95

Thr His Phe Pro Gln Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 21
<211> 113
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний поліпептид»

<400> 21
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Met Ile Asp Pro Ser Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Met Phe
50 55 60

Lys Asp Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ser Arg Ser Leu Ala Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
100 105 110

Ser

<400> 22

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Ser Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
85 90 95

Thr His Phe Pro Gln Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 23

<211> 113

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело

<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний поліпептид»

<400> 23

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Met Ile Asp Pro Ser Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Met Phe
50 55 60

Lys Asp Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ser Arg Ser Leu Ala Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
100 105 110

Ser

<210> 24

<211> 112

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело

<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний поліпептид»

<400> 24

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Ser Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
85 90 95

Thr His Phe Pro Gln Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 25

<211> 113

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело

<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний поліпептид»

<400> 25

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Met Ile Asp Pro Ser Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Met Phe
50 55 60

Lys Asp Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ser Arg Ser Leu Ala Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
100 105 110

Ser

<210> 26

<211> 112

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело

<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид»

<400> 26

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Ser Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
85 90 95

Thr His Phe Pro Gln Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 27
 <211> 113
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний поліпептид»

 <400> 27
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
 20 25 30

 Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

 Gly Met Ile Asp Pro Ser Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Met Phe
 50 55 60

 Lys Asp Arg Ala Thr Ile Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

 Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

 Ser Arg Ser Leu Ala Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 100 105 110

 Ser

<210> 28
 <211> 112
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний поліпептид»

 <400> 28
 Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15

 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

 Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

```

35              40              45
Pro Gln Ser Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
 50              55              60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65              70              75              80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
      85              90              95

Thr His Phe Pro Gln Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100              105              110

<210> 29
<211> 113
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний
      поліпептид»

<400> 29
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1      5      10      15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
      20      25      30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35      40      45

Gly Met Ile Asp Pro Ser Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Met Phe
50      55      60

Lys Asp Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65      70      75      80

Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
      85      90      95

Ser Arg Ser Leu Ala Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
100      105      110

Ser

<210> 30
<211> 112

```



```

<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний
    поліпептид»

<400> 30
Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1           5           10           15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20           25           30

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35           40           45

Pro Gln Ser Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50           55           60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65           70           75           80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
85           90           95

Thr His Phe Pro Gln Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100          105          110

<210> 31
<211> 5
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний
    пептид»

<400> 31
Ser Tyr Trp Ile Glu
1           5

<210> 32
<211> 17
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний
    пептид»

<400> 32
Glu Ile Leu Pro Gly Gly Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Glu Ile Phe Lys

```

| 1 | 5 | 10 | 15 |
|--|---|----|----|
| Gly | | | |
| <210> 33 <211> 8 <212> Білок <213> Штучна послідовність | | | |
| <220> <221> джерело <223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний пептид» | | | |
| <400> 33 Arg Val Pro Ile Arg Leu Asp Tyr 1 5 | | | |
| <210> 34 <211> 15 <212> Білок <213> Штучна послідовність | | | |
| <220> <221> джерело <223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний пептид» | | | |
| <400> 34 Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Phe Leu Asn 1 5 10 15 | | | |
| <210> 35 <211> 7 <212> Білок <213> Штучна послідовність | | | |
| <220> <221> джерело <223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний пептид» | | | |
| <400> 35 Ala Ala Arg Lys Leu Gly Arg 1 5 | | | |
| <210> 36 <211> 9 <212> Білок <213> Штучна послідовність | | | |
| <220> <221> джерело <223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний пептид» | | | |
| <400> 36 Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Leu Thr | | | |

1 5

<210> 37
 <211> 117
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <221> джерело
 <223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний поліпептид»

<400> 37
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Trp Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Gly Glu Ile Leu Pro Gly Gly Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Glu Ile Phe
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Thr Arg Arg Val Pro Ile Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 38
 <211> 111
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <221> джерело
 <223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний поліпептид»

<400> 38
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp
 20 25 30

Gly Asp Ser Phe Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Arg Lys Leu Gly Arg Gly Val Pro Ser
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
85 90 95

Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 39

<211> 5

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело

<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний пептид»

<400> 39

Asn Tyr Tyr Ile His

1

5

<210> 40

<211> 17

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело

<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний пептид»

<400> 40

Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 41

<211> 10

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело

<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний пептид»

<400> 41

Asp Ser Tyr Ser Asn Tyr Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 42

<211> 17

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело

<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний пептид»

<400> 42

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Ala

<210> 43

<211> 7

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело

<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний пептид»

<400> 43

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 44

<211> 8

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело

<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний пептид»

<400> 44

Thr Gln Ser Phe Ile Leu Arg Thr
1 5

<210> 45

<211> 5

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело

<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний пептид»

<400> 45

Ser Tyr Tyr Ile His

1 5

<210> 46

<211> 17

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело

<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний пептид»

<400> 46

Trp Ile Tyr Pro Glu Asn Asp Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Asp

<210> 47

<211> 10

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело

<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний пептид»

<400> 47

Asp Gly Tyr Ser Arg Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 48

<211> 17

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело

<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний пептид»

<400> 48

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 49

<211> 7

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

```

<220>
<221> джерело
<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний
пептид»

<400> 49
Trp Thr Ser Thr Arg Lys Ser
1 5

<210> 50
<211> 8
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний
пептид»

<400> 50
Lys Gln Ser Phe Ile Leu Arg Thr
1 5

<210> 51
<211> 5
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний
пептид»

<400> 51
Gly Tyr Thr Met Asn
1 5

<210> 52
<211> 17
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний
пептид»

<400> 52
Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15

Asp

<210> 53
<211> 13
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

```

<220>
 <221> джерело
 <223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний пептид»

<400> 53
 Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 54
 <211> 11
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <221> джерело
 <223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний пептид»

<400> 54
 Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn
 1 5 10

<210> 55
 <211> 7
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <221> джерело
 <223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний пептид»

<400> 55
 Tyr Thr Ser Arg Leu Glu Ser
 1 5

<210> 56
 <211> 9
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <221> джерело
 <223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний пептид»

<400> 56
 Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr
 1 5

<210> 57
 <211> 119
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <221> джерело
 <223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний поліпептид»

<400> 57

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Ser Tyr Ser Asn Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 58

<211> 112

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело

<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний поліпептид»

<400> 58

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Gln
85 90 95

Ser Phe Ile Leu Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 59
<211> 119
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид»

<400> 59
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Glu Asn Asp Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Gly Tyr Ser Arg Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 60
<211> 112
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид»

<400> 60
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly

```

1           5           10           15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
      20           25           30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
      35           40           45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Thr Arg Lys Ser Gly Val
      50           55           60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
      65           70           75           80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
      85           90           95

Ser Phe Ile Leu Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
      100          105          110

<210> 61
<211> 122
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний
      поліпептид»

<400> 61
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1           5           10           15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
      20           25           30

Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Asp Leu Glu Trp Val
      35           40           45

Ala Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
      50           55           60

Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
      65           70           75           80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
      85           90           95

Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp
      100          105          110

```

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 62
<211> 107
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний поліпептид»

<400> 62
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 63
<211> 21
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний пептид»

<400> 63
Ala Arg Ser Glu Asp Arg Tyr Arg Asn Pro Lys Gly Ser Ala Cys Ser
1 5 10 15

Arg Ile Trp Gln Ser
20

```

<210> 64
<211> 21
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка = «Опис штучної послідовності: синтетичний
        пептид»

<400> 64
Ala Lys Ser Glu Asp Leu Tyr Pro Asn Pro Lys Gly Ser Ala Cys Ser
1           5           10          15
.
Arg Ile Trp Gln Ser
                20

```

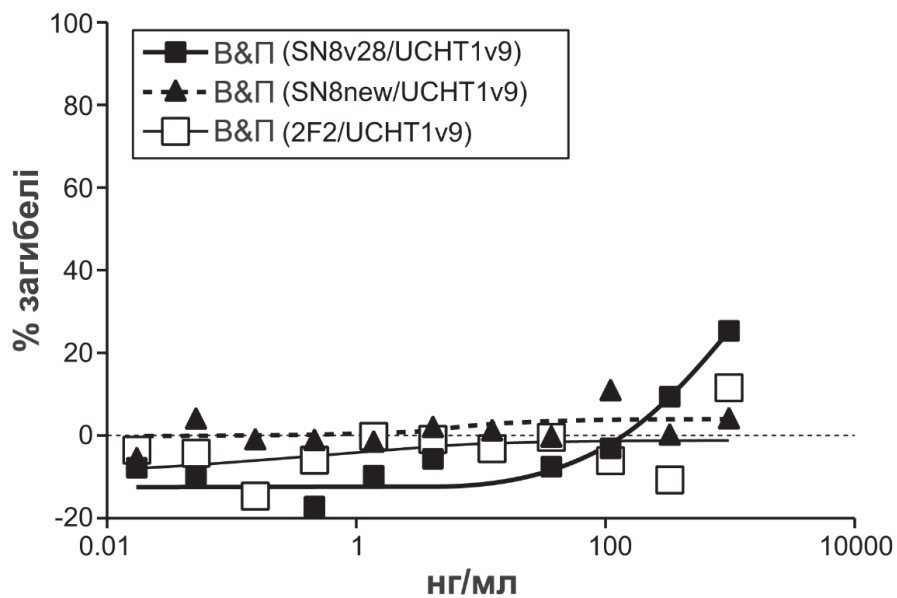
ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- 5 1. Виділене антитіло до CD79b, яке містить CD79b-зв'язуючий домен, що містить наступні шість гіперваріабельних ділянок (HVR):
 - (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5;
 - (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 8;
 - (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9;
 - 10 (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10;
 - (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11; і
 - (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12.
2. Антитіло до CD79b за п. 1, яке **відрізняється** тим, що CD79b-зв'язуючий домен містить наступні шість HVR:
 - 15 (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3;
 - (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6;
 - (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9;
 - (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10;
 - (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11; і
 - 20 (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12.
3. Антитіло до CD79b за п. 1, яке **відрізняється** тим, що CD79b-зв'язуючий домен містить наступні шість HVR:
 - (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4;
 - (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7;
 - 25 (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9;
 - (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10;
 - (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11; і
 - (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12.
4. Антитіло до CD79b за п. 2, яке **відрізняється** тим, що містить (a) послідовність VH, що має щонайменше 95 % ідентичність послідовності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 17, 21, 23, 25, 27 або 29; (b) послідовність VL, що має щонайменше 95 % ідентичність послідовності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 18, 22, 24, 26, 28 або 30; або (в) послідовність VH, як в (a), і послідовність VL, як в (b).
5. Антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 3-4, яке містить послідовність VH SEQ ID NO: 17, 21, 23, 25, 27 і 29.
- 35 6. Антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 3-5, яке містить послідовність VL SEQ ID NO: 18, 22, 24, 26, 28 або 30.
7. Антитіло до CD79b за п. 3, яке **відрізняється** тим, що містить (a) послідовність VH, що має щонайменше 95 % ідентичність послідовності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 19;
- 40 (b) послідовність VL, що має щонайменше 95 % ідентичність послідовності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 20; або (c) послідовність VH, описану в (a), і послідовність VL, описану в (b).
8. Антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 3 або п. 7, яке містить послідовність VH SEQ ID NO: 19.
9. Антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 3 або 7-8, яке містить послідовність VL SEQ ID NO: 20.

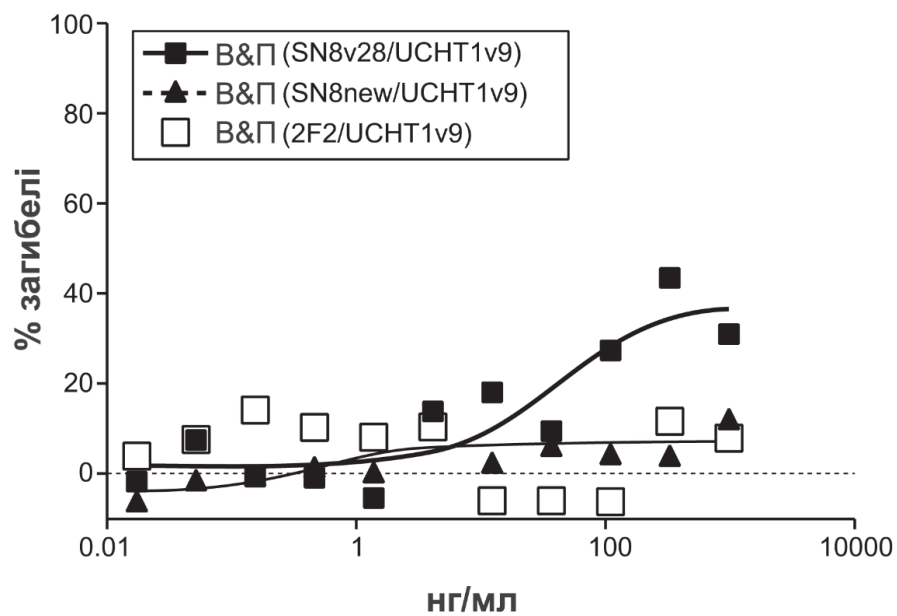
10. Антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 1-9, яке **відрізняється** тим, що CD79b-зв'язуючий домен зв'язується з SEQ ID NO: 63.
11. Антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 1-10, яке **відрізняється** тим, що CD79b-зв'язуючий домен зв'язується із CD79b людини із Kd менш ніж близько 25 нМ для двовалентного антитіла з двома плечима IgG, наприклад, менш ніж близько будь-якого з 10 нМ або 5 нМ.
12. Антитіло за будь-яким із пп. 1-11, яке **відрізняється** тим, що CD79b-зв'язуючий домен, який зв'язується із CD79b людини, зв'язується з В-клітиною із EC₅₀ менше 1,5 мкг/мл в одновалентному форматі, наприклад, менш ніж близько 1 мкг/мл, 0,75 мкг/мл, 0,5 мкг/мл або менш ніж 0,25 мкг/мл.
13. Антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 1-12, яке **відрізняється** тим, що антитіло до CD79b є моноклональним, людським, гуманізованим або химерним антитілом.
14. Антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 1-13, яке **відрізняється** тим, що антитіло до CD79b є антитілом IgG.
15. Антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 1-14, яке **відрізняється** тим, що антитіло до CD79b є фрагментом антитіла, який зв'язується із CD79b.
16. Антитіло до CD79b за п. 15, яке **відрізняється** тим, що фрагмент антитіла до CD79b являє собою Fab, Fab'-SH, Fv, scFv та/або (Fab')₂ фрагмент.
17. Антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 1-14, яке **відрізняється** тим, що антитіло до CD79b є повнорозмірним антитілом.
18. Антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 1-17, яке **відрізняється** тим, що антитіло до CD79b містить мутацію сайту аглікозилювання.
19. Антитіло до CD79b за п. 18, яке **відрізняється** тим, що мутація сайту аглікозилювання є мутацією із заміною.
20. Антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 1-19, яке **відрізняється** тим, що антитіло до CD79b має знижену ефекторну функцію.
21. Антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 1-20, яке **відрізняється** тим, що антитіло до CD79b містить мутацію із заміною по амінокислотному залишку N297, L234, L235 та/або D265 згідно нумерації ЕС.
22. Антитіло до CD79b за п. 21, яке **відрізняється** тим, що мутація із заміною вибрана із групи, що складається з N297G, N297A, L234A і L235A або D265A, згідно нумерації ЕС.
23. Антитіло до CD79b за п. 21, яке **відрізняється** тим, що антитіло містить мутацію із заміною N297G по амінокислотному залишку 297 згідно нумерації ЕС.
24. Антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 1-23, яке **відрізняється** тим, що антитіло до CD79b є моноспецифічним антитілом (наприклад, двовалентне антитіло з двома плечима).
25. Антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 1-23, яке **відрізняється** тим, що антитіло до CD79b є поліспецифічним антитілом.
26. Антитіло до CD79b за п. 25, яке **відрізняється** тим, що поліспецифічне антитіло містить CD3-зв'язуючий домен.
27. Антитіло до CD79b за п. 26, яке **відрізняється** тим, що CD3-зв'язуючий домен зв'язується з поліпептидом CD3 людини або поліпептидом CD3 яванського макака (супо).
28. Антитіло до CD79b за п. 27, яке **відрізняється** тим, що поліпептид CD3 людини або поліпептид CD3 яванського макака є поліпептидом CD3_ε людини або поліпептидом CD3_ε яванського макака, відповідно.
29. Антитіло до CD79b за п. 27, яке **відрізняється** тим, що поліпептид CD3 людини або поліпептид CD3 яванського макака є поліпептидом CD3_γ людини або поліпептидом CD3_γ яванського макака, відповідно.
30. Антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 26-29, яке **відрізняється** тим, що CD3-зв'язуючий домен містить наступні шість HVR:
(a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 45;
(b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 46;
(c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 47;
(d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 48;
(e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 49; і
(f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 50.
31. Антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 26-30, яке **відрізняється** тим, що CD3-зв'язуючий домен містить (a) послідовність VH, що має щонайменше 95 % ідентичність послідовності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 59; (b) послідовність VL, що має щонайменше 95 % ідентичність послідовності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 60; або (c) послідовність VH, описану в (a), і послідовність VL, описану в (b).

32. Антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 26-31, яке **відрізняється** тим, що CD3-зв'язуючий домен містить послідовність VH, наведену у SEQ ID NO: 59.
33. Антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 26-32, яке **відрізняється** тим, що CD3-зв'язуючий домен містить послідовність VL, наведену у SEQ ID NO: 60.
- 5 34. Антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 26-29, яке **відрізняється** тим, що CD3-зв'язуючий домен містить наступні шість HVR:
 - (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39;
 - (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 40;
 - (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 41;
 - 10 (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 42;
 - (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 43; і
 - (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 44.
35. Антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 26-29 або п. 34, яке **відрізняється** тим, що CD3-зв'язуючий домен містить (a) послідовність VH, що має щонайменше 95 % ідентичність
15 послідовності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 57; (b) послідовність VL, що має щонайменше 95 % ідентичність послідовності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 58; або (c) послідовність VH, описану в (a), і послідовність VL, описану в (b).
36. Антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 26-29 або пп. 34-35, яке **відрізняється** тим, що CD3-зв'язуючий домен містить послідовність VH, наведену у SEQ ID NO: 57.
- 20 37. Антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 26-29 або пп. 34-36, яке **відрізняється** тим, що CD3-зв'язуючий домен містить послідовність VL, наведену у SEQ ID NO: 58.
38. Антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 26-29, яке **відрізняється** тим, що CD3-зв'язуючий домен містить наступні шість HVR.
 - 25 (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 51;
 - (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 52;
 - (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 53;
 - (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 54;
 - (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55; і
 - 30 (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 56.
39. Антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 26-29 або п. 38, яке **відрізняється** тим, що CD3-зв'язуючий домен містить (a) послідовність VH, що має щонайменше 95 % ідентичність послідовності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 61; (b) послідовність VL, що має щонайменше 95 % ідентичність послідовності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 62;
35 або (c) послідовність VH, описану в (a), і послідовність VL, описану в (b).
40. Антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 26-29 або пп. 38-39, яке **відрізняється** тим, що CD3-зв'язуючий домен містить послідовність VH, наведену у SEQ ID NO: 61.
41. Антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 26-29 або пп. 38-40, яке **відрізняється** тим, що CD3-зв'язуючий домен містить послідовність VL, наведену у SEQ ID NO: 62.
- 40 42. Антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 25-41, яке **відрізняється** тим, що поліспецифічне антитіло є біспецифічним антитілом.
43. Антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 25-42, яке **відрізняється** тим, що антитіло до CD79b спричиняє загибель В-клітин з EC₅₀ менш ніж близько 100 нг/мл.
44. Антитіло до CD79b за п. 43, яке **відрізняється** тим, що загибель В-клітин є загибеллю
45 ендогенних В-клітин або загибеллю лінії В-клітин, наприклад клітинної лінії BJAB, клітинної лінії WSU-CLCL2, клітинної лінії OCI-Ly-19.
45. Антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 25-44, яке **відрізняється** тим, що антитіло до CD79b спричиняє активацію цитотоксичних Т-клітин із EC₅₀ менш ніж близько 50 нг/мл.
46. Антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 26-45, яке **відрізняється** тим, що (a) CD3-зв'язуючий
50 домен містить домен Fc, причому домен Fc містить мутації із заміною T366S, L368A, Y407V і N297G згідно нумерації ЕС, і (b) CD79b-зв'язуючий домен містить домен Fc, причому домен Fc містить мутації із заміною T366W і N297G згідно нумерації ЕС.
47. Виділена нуклеїнова кислота, що кодує антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 1-46.
48. Вектор, що містить виділену нуклеїнову кислоту за п. 47.
- 55 49. Клітина-хазяїн, що містить вектор за п. 48.
50. Спосіб одержання антитіла до CD79b за будь-яким із пп. 1-46, який включає культивування клітини-хазяїна за п. 49 у поживному середовищі.
51. Імунокон'югат, що містить антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 1-46 і цитотоксичний агент.
52. Фармацевтична композиція, що містить антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 1-46.
- 60 53. Антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 1-46 для застосування як лікарського засобу.

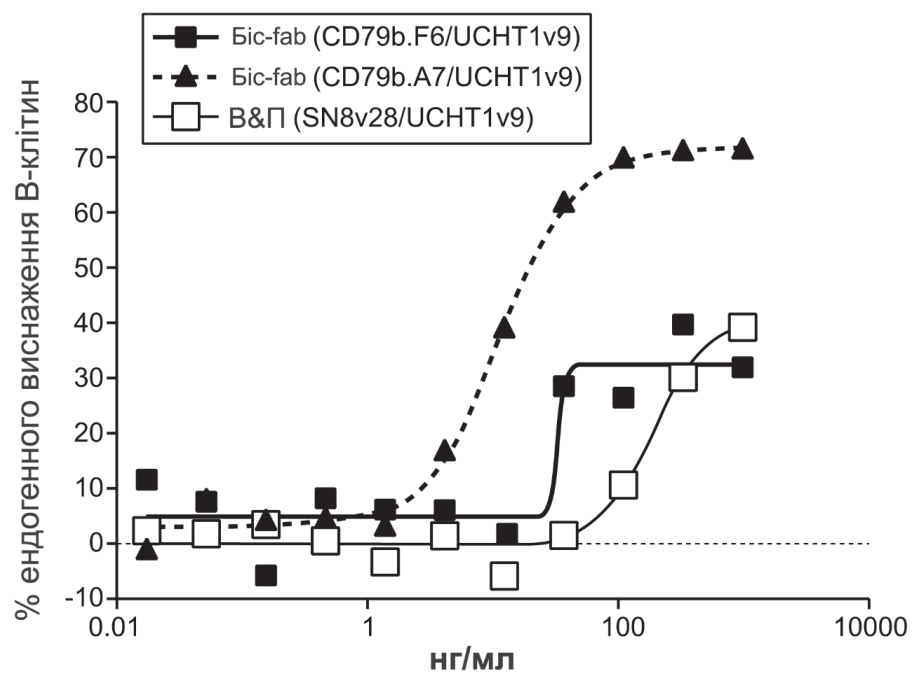
54. Антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 1-46 для застосування з метою лікування або сповільнення прогресування В-клітинного проліферативного розладу або аутоімунного розладу у суб'єкта, який потребує цього.
55. Антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 1-46 для застосування з метою покращення імунної функції у суб'єкта з розладом проліферації В-клітин або аутоімунним захворюванням.
56. Антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 54-55, яке **відрізняється** тим, що розлад проліферації В-клітин є раком.
57. Антитіло до CD79b за будь-яким із пп. 54-56, яке **відрізняється** тим, що розлад проліферації В-клітин являє собою лімфому, неходжкінську лімфому (НХЛ), агресивну НХЛ, рецидивуючу агресивну НХЛ, рецидивуючу сповільнену НХЛ, рефрактерну НХЛ, рефрактерну сповільнену НХЛ, хронічний лімфоцитарний лейкоз (ХЛЛ), дрібноклітинну лімфоцитарну лімфому, лейкоз, волосатоклітинний лейкоз (ВКЛ), гострий лімфоцитарний лейкоз (ГЛЛ) та/або мантийноклітинну лімфому.
58. Застосування антитіла до CD79b за будь-яким із пп. 1-46 у виробництві лікарського засобу для лікування або сповільнення прогресування розладу клітинної проліферації або аутоімунного захворювання.
59. Застосування антитіла до CD79b за будь-яким із пп. 1-46 у виробництві лікарського засобу для покращення імунної функції у суб'єкта з порушенням клітинної проліферації або аутоімунним захворюванням.
60. Застосування за будь-яким із пп. 58-59, де порушення клітинної проліферації є раком.
61. Застосування за будь-яким із пп. 58-60, де розлад проліферації В-клітин являє собою лімфому, НХЛ, агресивну НХЛ, рецидивуючу агресивну НХЛ, рецидивуючу сповільнену НХЛ, рефрактерну НХЛ, рефрактерну сповільнену НХЛ, ХЛЛ, дрібноклітинну лімфоцитарну лімфому, лейкоз, ВКЛ, ГЛЛ та/або мантийноклітинну лімфому.
62. Спосіб лікування або уповільнення прогресування розладу клітинної проліферації або аутоімунного розладу у суб'єкта, який потребує цього, причому спосіб включає введення суб'єкту антитіла до CD79b за будь-яким із пп. 1-46.
63. Спосіб підсилення імунної функції у суб'єкта з порушенням клітинної проліферації або аутоімунним розладом, який включає введення суб'єкту ефективної кількості антитіла до CD79b за будь-яким із пп. 1-46.
64. Спосіб за будь-яким із пп. 62-63, який **відрізняється** тим, що порушення клітинної проліферації є раком.
65. Спосіб за будь-яким із пп. 62-64, який **відрізняється** тим, що розлад проліферації В-клітин являє собою лімфому, НХЛ, агресивну НХЛ, рецидивуючу агресивну НХЛ, рецидивуючу сповільнену НХЛ, рефрактерну НХЛ, рефрактерну сповільнену НХЛ, ХЛЛ, дрібноклітинну лімфоцитарну лімфому, лейкоз, ВКЛ, ГЛЛ та/або мантийноклітинну лімфому.
66. Спосіб за будь-яким із пп. 62-65, що додатково включає введення суб'єкту антагоніста зв'язування по осі PD-1 або додаткового терапевтичного агента.
67. Спосіб за будь-яким із пп. 62-66, що додатково включає введення суб'єкту глюкокортикоїду.
68. Спосіб за п. 67, який **відрізняється** тим, що глюкокортикоїд є дексаметазоном.
69. Спосіб за будь-яким із пп. 62-68, що додатково включає введення суб'єкту ритуксимабу.



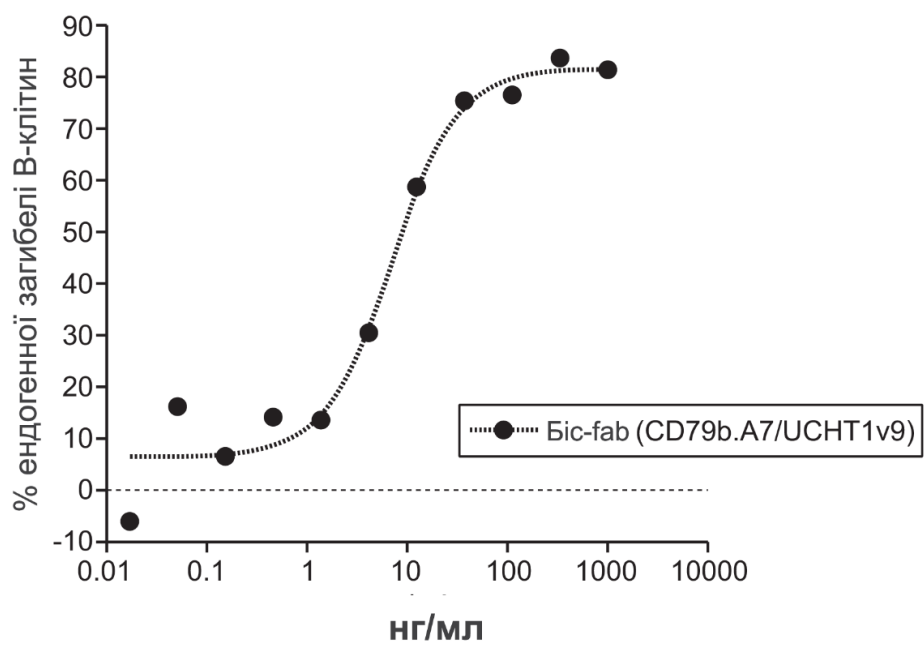
ФІГ. 1А



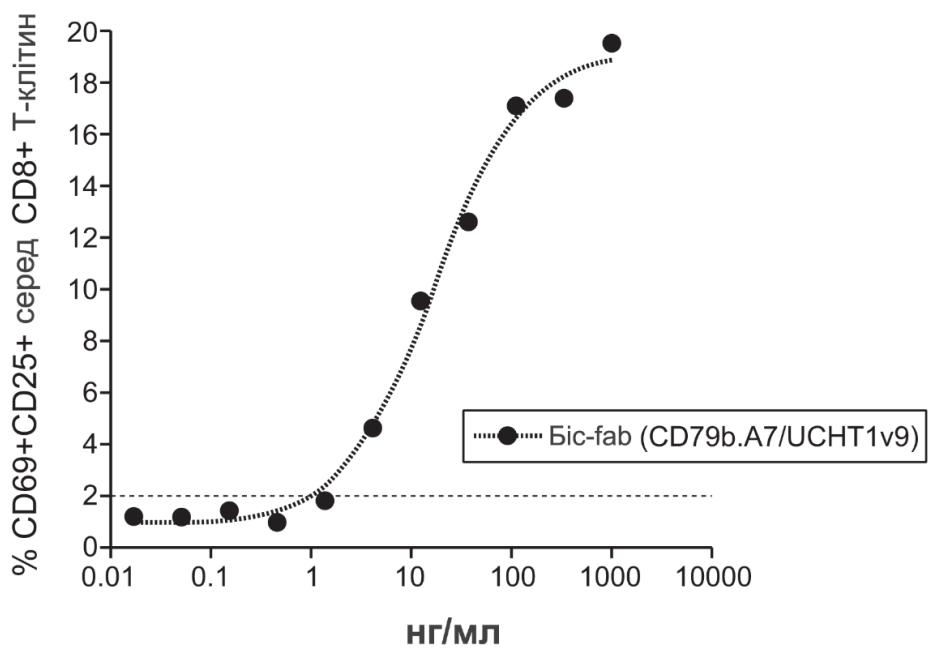
ФІГ. 1В



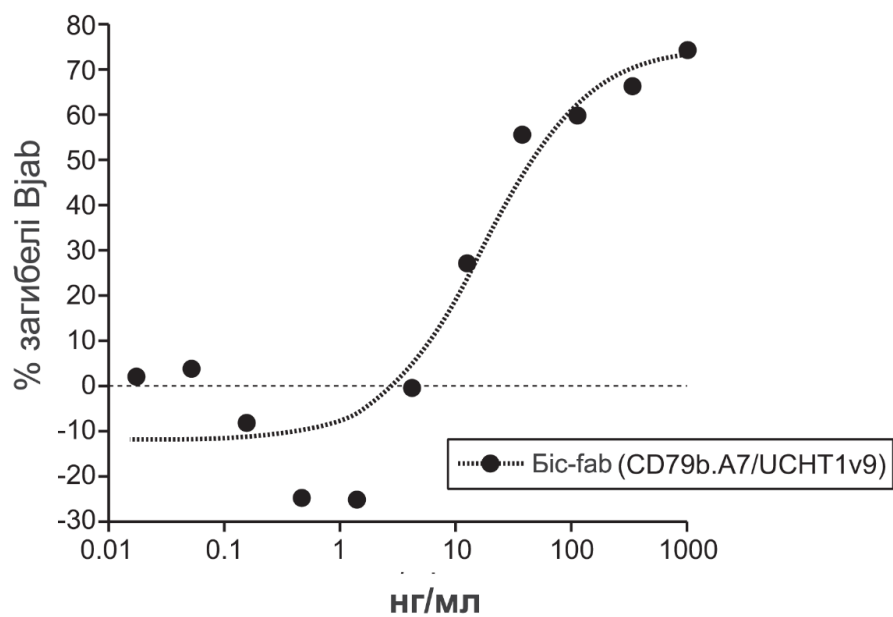
ФІГ. 1С



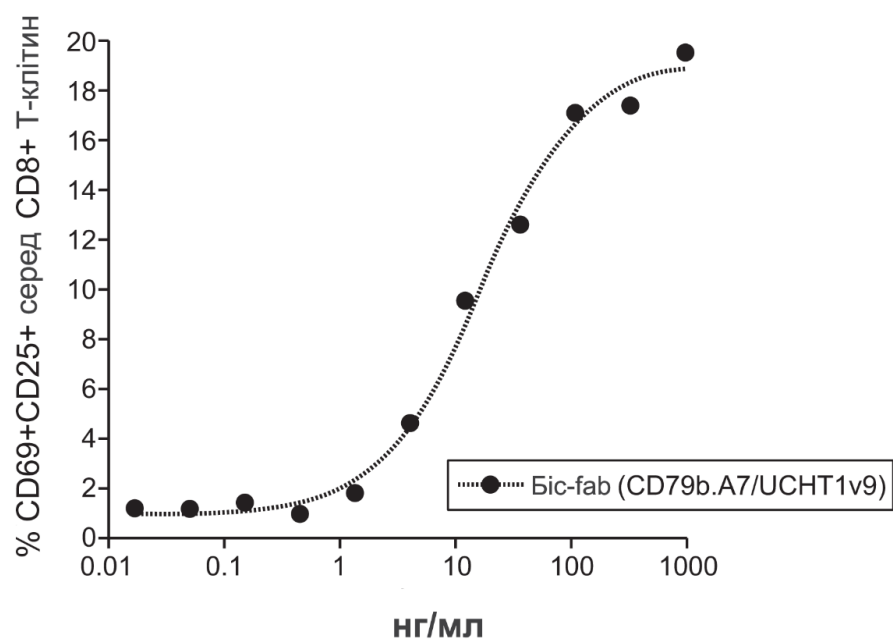
ФІГ. 2А



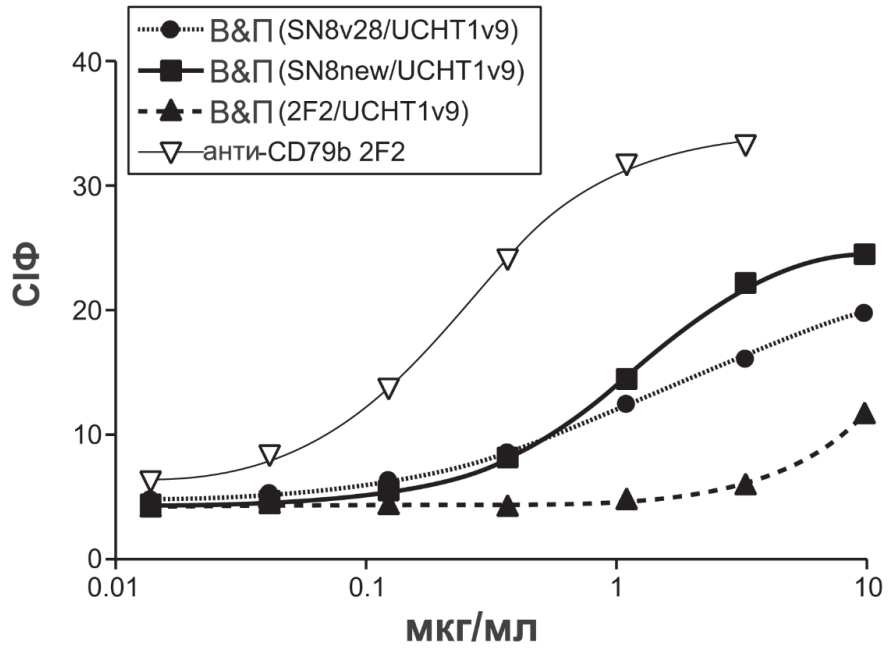
ФІГ. 2В



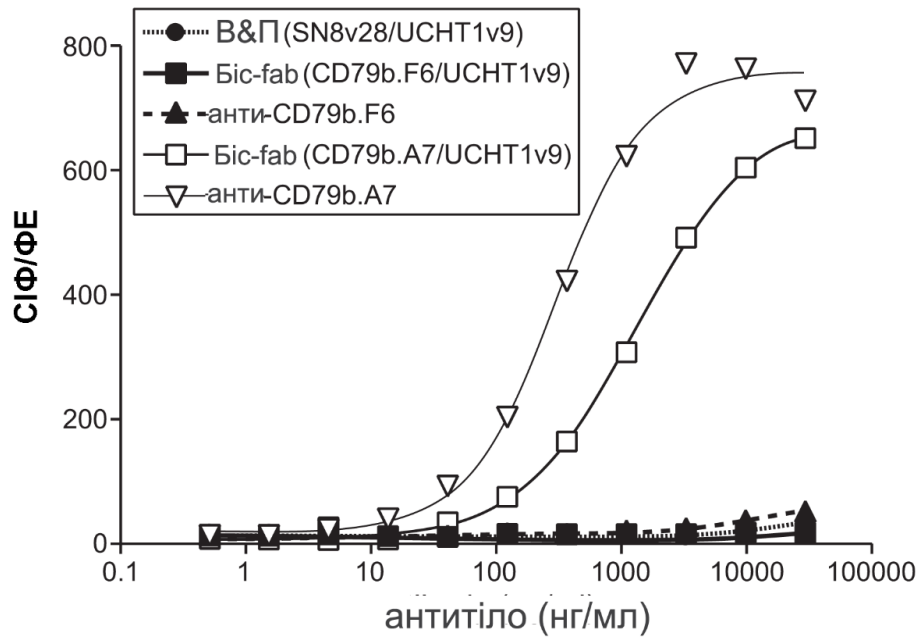
ФІГ. 2С



ФІГ. 2D



ФІГ. 3А



ФІГ. 3В

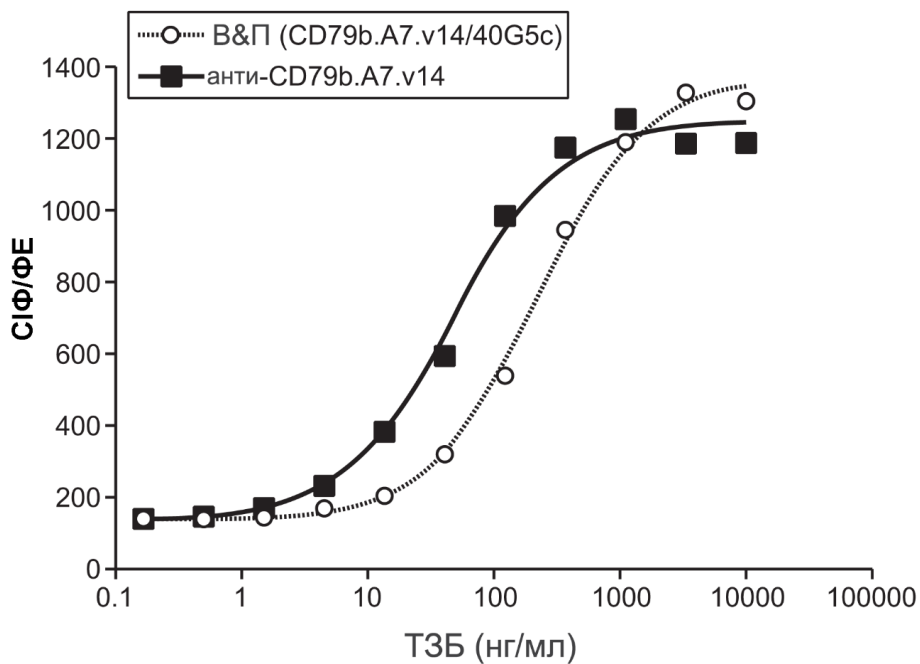


FIG. 3C

ΦΙΓ. 4Α

Варіабельна ділянка важкого ланцюга

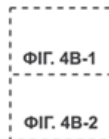
| Нумерація за Kabat | CDR H1 - Контакт | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------------------|------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|---|
| | CDR H1 - Chothia | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | CDR H1 - Kabat | | | | | | | | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 | 38 | 39 | 40 | 41 | 42 | |
| K2H1 | E | V | Q | L | V | Q | S | G | A | E | V | K | K | P | G | A | S | V | K | V | S | C | K | A | S | G | Y | T | F | T | S | Y | I | H | W | V | R | Q | A | P | G | | |
| CD79b.A7 | Q | V | Q | L | Q | Q | P | G | V | E | L | V | R | P | G | A | S | V | K | L | S | C | K | A | S | G | Y | T | F | T | T | Y | Y | W | M | N | W | V | R | Q | R | P | G |
| CD79b.A7.v14 | E | V | Q | L | V | Q | S | G | A | E | V | K | K | P | G | A | S | V | K | V | S | C | K | A | S | G | Y | T | F | T | T | Y | Y | W | M | N | W | V | R | Q | A | P | G |
| CD79b.A7.v14b | E | V | Q | L | V | Q | S | G | A | E | V | K | K | P | G | A | S | V | K | V | S | C | K | A | S | G | Y | T | F | T | T | Y | Y | W | M | N | W | V | R | Q | A | P | G |
| CD79b.A7.v15 | E | V | Q | L | V | Q | S | G | A | E | V | K | K | P | G | A | S | V | K | V | S | C | K | A | S | G | Y | T | F | T | T | Y | Y | W | M | N | W | V | R | Q | A | P | G |
| CD79b.A7.v18 | E | V | Q | L | V | Q | S | G | A | E | V | K | K | P | G | A | S | V | K | V | S | C | K | A | S | G | Y | T | F | T | T | Y | Y | W | M | N | W | V | R | Q | A | P | G |
| CD79b.A7.v19 | E | V | Q | L | V | Q | S | G | A | E | V | K | K | P | G | A | S | V | K | V | S | C | K | A | S | G | Y | T | F | T | T | Y | Y | W | M | N | W | V | R | Q | A | P | G |
| CD79b.A7.v20 | E | V | Q | L | V | Q | S | G | A | E | V | K | K | P | G | A | S | V | K | V | S | C | K | A | S | G | Y | T | F | T | T | Y | Y | W | M | N | W | V | R | Q | A | P | G |
| CD79b.A7.v21 | E | V | Q | L | V | Q | S | G | A | E | V | K | K | P | G | A | S | V | K | V | S | C | K | A | S | G | Y | T | F | T | T | Y | Y | W | M | N | W | V | R | Q | A | P | G |

ΦΙΓ. 4Α-1

| | | CDR H2 - Контакт | |
|--------------------|---|------------------|---|
| | | CDR H2 - Chothia | |
| | | CDR H2 - Kabat | |
| Нумерація за Kabat | | 43 44 | 45 46 47 48 49 50 51 52 52a 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 82a |
| K2H1 | Q G L E W I G W I N P G S G N T N Y A Q K F Q G R V T I T R D T S T S T A Y L E L S | | |
| CD79b.A7 | Q G L D W I G N I D P S D S E T H Y N Q M F K D K A T L T V D K S S S T A Y I Q L N | | |
| CD79b.A7.v14 | Q G L E W I G M I D P S D S E T H Y N Q M F K D R A T L T V D T S T S T A Y L E L S | | |
| CD79b.A7.v14b | Q G L E W I G M I D P S D S E T H Y N Q K F Q G R A T L T V D T S T S T A Y L E L S | | |
| CD79b.A7.v15 | Q G L E W I G M I D P S D S E T H Y N Q M F K D R A T L T V D T S T S T A Y L E L S | | |
| CD79b.A7.v18 | Q G L E W I G M I D P S D S E T H Y N Q M F K D R A T L T V D K S T S T A Y L E L S | | |
| CD79b.A7.v19 | Q G L E W I G M I D P S D S E T H Y N Q M F K D R A T L T V D K S T S T A Y L E L S | | |
| CD79b.A7.v20 | Q G L E W I G M I D P S D S E T H Y N Q M F K D R A T I T V D T S T S T A Y L E L S | | |
| CD79b.A7.v21 | Q G L E W I G M I D P S D S E T H Y N Q M F K D R V T L T V D T S T S T A Y L E L S | | |

| | | CDR H3 - Контакт | |
|--------------------|---|---|--|
| | | CDR H3 - Chothia | |
| | | CDR H3 - Kabat | |
| Нумерація за Kabat | | 82b 82c 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 101 102 103 104 105 106 107 108 109 110 111 112 113 | |
| K2H1 | S L R S E D T A V Y Y C A R F . D Y W G Q G T L V T V S S | | |
| CD79b.A7 | S L F S E D S A V Y Y C S R S L A F W G Q G T L V T V S A | | |
| CD79b.A7.v14 | S L R S E D T A V Y Y C S R S L A F W G Q G T L V T V S S | | |
| CD79b.A7.v14b | S L R S E D T A V Y Y C S R S L A F W G Q G T L V T V S S | | |
| CD79b.A7.v15 | S L R S E D T A V Y Y C S R S L A F W G Q G T L V T V S S | | |
| CD79b.A7.v18 | S L R S E D T A V Y Y C S R S L A F W G Q G T L V T V S S | | |
| CD79b.A7.v19 | S L R S E D T A V Y Y C S R S L A F W G Q G T L V T V S S | | |
| CD79b.A7.v20 | S L R S E D T A V Y Y C S R S L A F W G Q G T L V T V S S | | |
| CD79b.A7.v21 | S L R S E D T A V Y Y C S R S L A F W G Q G T L V T V S S | | |

ФІГ. 4A-2



ФІГ. 4B

Варіабельна ділянка легкого ланцюга

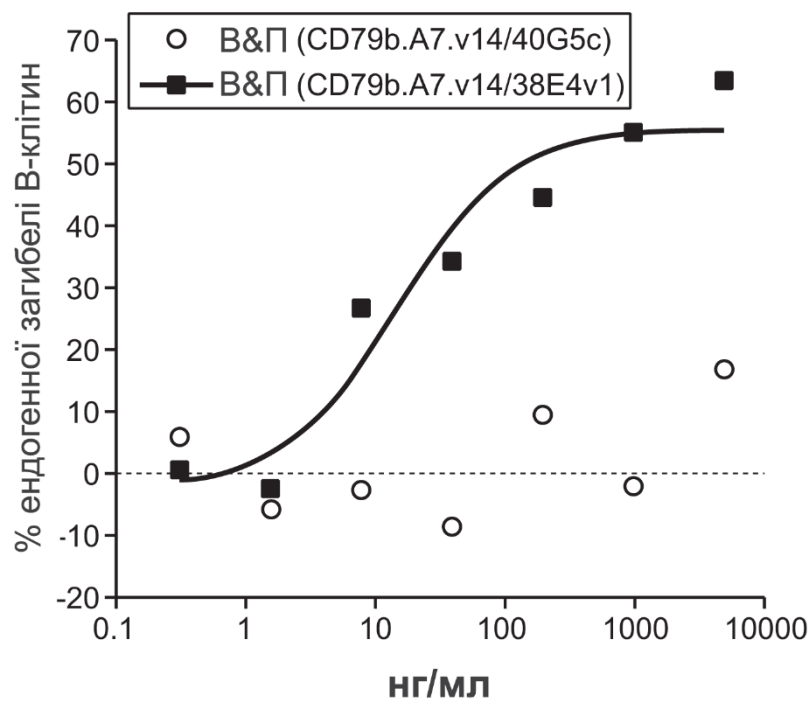
| | | CDR L1 - Chothia | |
|--------------------|---|---|--|
| | | CDR L1 - Kabat | |
| | | CDR L1 - Контакт | |
| Нумерація за Kabat | | 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 27a 27b 27c 27d 27e 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 | |
| K2H1 | D I V M T Q T P L S L P V T P G Q P A S I S C R S S Q S L L H S S G N T Y L D W Y L | | |
| CD79b.A7 | D V V M T Q T P L S L S V T I G Q P A S I S C K S S Q S L L D S D G K T Y L N W L L | | |
| CD79b.A7.v14 | D I V M T Q T P L S L P V T P G Q P A S I S C K S S Q S L L D S D G K T Y L N W L L | | |
| CD79b.A7.v14b | D I V M T Q T P L S L P V T P G Q P A S I S C K S S Q S L L D S D G K T Y L N W L L | | |
| CD79b.A7.v15 | D V V M T Q T P L S L P V T P G Q P A S I S C K S S Q S L L D S D G K T Y L N W L L | | |
| CD79b.A7.v18 | D I V M T Q T P L S L P V T P G Q P A S I S C K S S Q S L L D S D G K T Y L N W L L | | |
| CD79b.A7.v19 | D V V M T Q T P L S L P V T P G Q P A S I S C K S S Q S L L D S D G K T Y L N W L L | | |
| CD79b.A7.v20 | D I V M T Q T P L S L P V T P G Q P A S I S C K S S Q S L L D S D G K T Y L N W L L | | |
| CD79b.A7.v21 | D I V M T Q T P L S L P V T P G Q P A S I S C K S S Q S L L D S D G K T Y L N W L L | | |

ФІГ. 4B-1

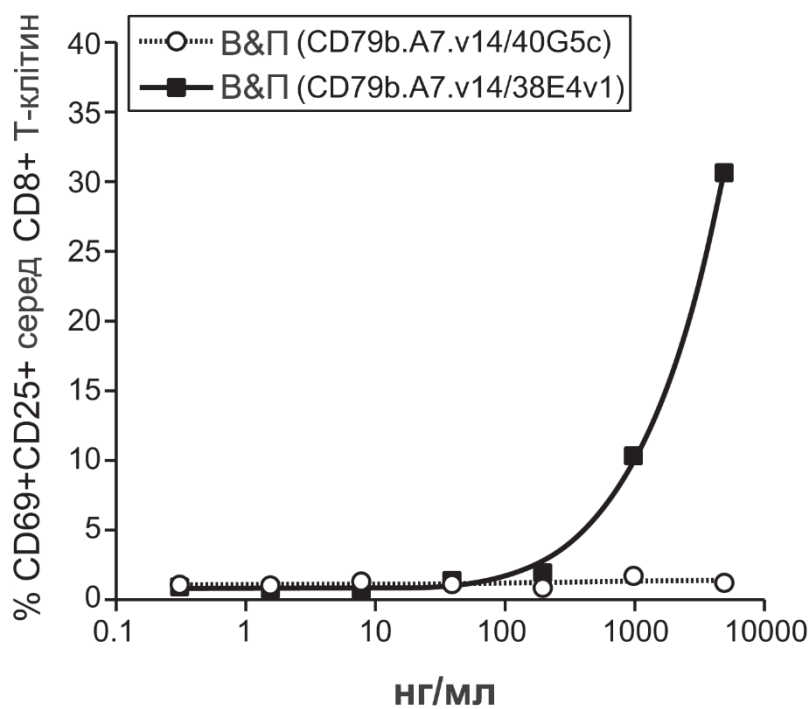
| | | CDR L2 - Контакт | | | | | | | | | | CDR L2 - Chothia | | | | | | | | | | CDR L2 - Kabat | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------------------|--|------------------|----------|----|----|----|----|----|----------|----------|----|------------------|----|----|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----|----------------|----|----|----|----|----------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| Нумерація за Kabat | | 38 | 39 | 40 | 41 | 42 | 43 | 44 | 45 | 46 | 47 | 48 | 49 | 50 | 51 | 52 | 53 | 54 | 55 | 56 | 57 | 58 | 59 | 60 | 61 | 62 | 63 | 64 | 65 | 66 | 67 | 68 | 69 | 70 | 71 | 72 | 73 | 74 | 75 | 76 | 77 | 78 | 79 |
| K2H1 | | Q | K | P | G | Q | S | P | Q | L | L | I | Y | L | G | S | N | R | A | S | G | V | P | D | R | F | S | G | S | G | S | G | T | D | F | T | L | K | I | S | R | V | E |
| CD79b.A7 | | Q | R | P | G | Q | S | P | K | C | L | I | Y | L | V | S | K | L | D | S | G | V | P | D | R | F | T | G | S | G | S | G | T | D | F | T | L | K | I | S | R | V | E |
| CD79b.A7.v14 | | Q | K | P | G | Q | S | P | Q | S | L | I | Y | L | V | S | K | L | D | S | G | V | P | D | R | F | S | G | S | G | S | G | T | D | F | T | L | K | I | S | R | V | E |
| CD79b.A7.v14b | | Q | K | P | G | Q | S | P | Q | S | L | I | Y | L | V | S | K | L | D | S | G | V | P | D | R | F | S | G | S | G | S | G | T | D | F | T | L | K | I | S | R | V | E |
| CD79b.A7.v15 | | Q | K | P | G | Q | S | P | Q | S | L | I | Y | L | V | S | K | L | D | S | G | V | P | D | R | F | S | G | S | G | S | G | T | D | F | T | L | K | I | S | R | V | E |
| CD79b.A7.v18 | | Q | K | P | G | Q | S | P | Q | S | L | I | Y | L | V | S | K | L | D | S | G | V | P | D | R | F | S | G | S | G | S | G | T | D | F | T | L | K | I | S | R | V | E |
| CD79b.A7.v19 | | Q | K | P | G | Q | S | P | Q | S | L | I | Y | L | V | S | K | L | D | S | G | V | P | D | R | F | S | G | S | G | S | G | T | D | F | T | L | K | I | S | R | V | E |
| CD79b.A7.v20 | | Q | K | P | G | Q | S | P | Q | S | L | I | Y | L | V | S | K | L | D | S | G | V | P | D | R | F | S | G | S | G | S | G | T | D | F | T | L | K | I | S | R | V | E |
| CD79b.A7.v21 | | Q | K | P | G | Q | S | P | Q | S | L | I | Y | L | V | S | K | L | D | S | G | V | P | D | R | F | S | G | S | G | S | G | T | D | F | T | L | K | I | S | R | V | E |

| | | CDR L3 - Контакт | | | | | | | | | | CDR L3 - Chothia | | | | | | | | | | CDR L3 - Kabat | | | | | | | | | |
|--------------------|--|------------------|----|----|----------|----|----|----|----|----|----------|------------------|----------|----------|----------|----|----|----------|----|----|----|----------------|-----|-----|-----|----------|-----|-----|-----|--|--|
| Нумерація за Kabat | | 80 | 81 | 82 | 83 | 84 | 85 | 86 | 87 | 88 | 89 | 90 | 91 | 92 | 93 | 94 | 95 | 96 | 97 | 98 | 99 | 100 | 101 | 102 | 103 | 104 | 105 | 106 | 107 | | |
| K2H1 | | A | E | D | V | G | V | Y | Y | C | Q | Q | A | I | Q | F | P | F | T | F | G | Q | G | T | K | V | E | I | K | | |
| CD79b.A7 | | A | E | D | L | G | V | Y | Y | C | W | Q | G | T | H | F | P | Q | T | F | G | G | G | T | K | L | E | I | K | | |
| CD79b.A7.v14 | | A | E | D | V | G | V | Y | Y | C | W | Q | G | T | H | F | P | Q | T | F | G | Q | G | T | K | V | E | I | K | | |
| CD79b.A7.v14b | | A | E | D | V | G | V | Y | Y | C | W | Q | G | T | H | F | P | Q | T | F | G | Q | G | T | K | V | E | I | K | | |
| CD79b.A7.v15 | | A | E | D | V | G | V | Y | Y | C | W | Q | G | T | H | F | P | Q | T | F | G | Q | G | T | K | V | E | I | K | | |
| CD79b.A7.v18 | | A | E | D | V | G | V | Y | Y | C | W | Q | G | T | H | F | P | Q | T | F | G | Q | G | T | K | V | E | I | K | | |
| CD79b.A7.v19 | | A | E | D | V | G | V | Y | Y | C | W | Q | G | T | H | F | P | Q | T | F | G | Q | G | T | K | V | E | I | K | | |
| CD79b.A7.v20 | | A | E | D | V | G | V | Y | Y | C | W | Q | G | T | H | F | P | Q | T | F | G | Q | G | T | K | V | E | I | K | | |
| CD79b.A7.v21 | | A | E | D | V | G | V | Y | Y | C | W | Q | G | T | H | F | P | Q | T | F | G | Q | G | T | K | V | E | I | K | | |

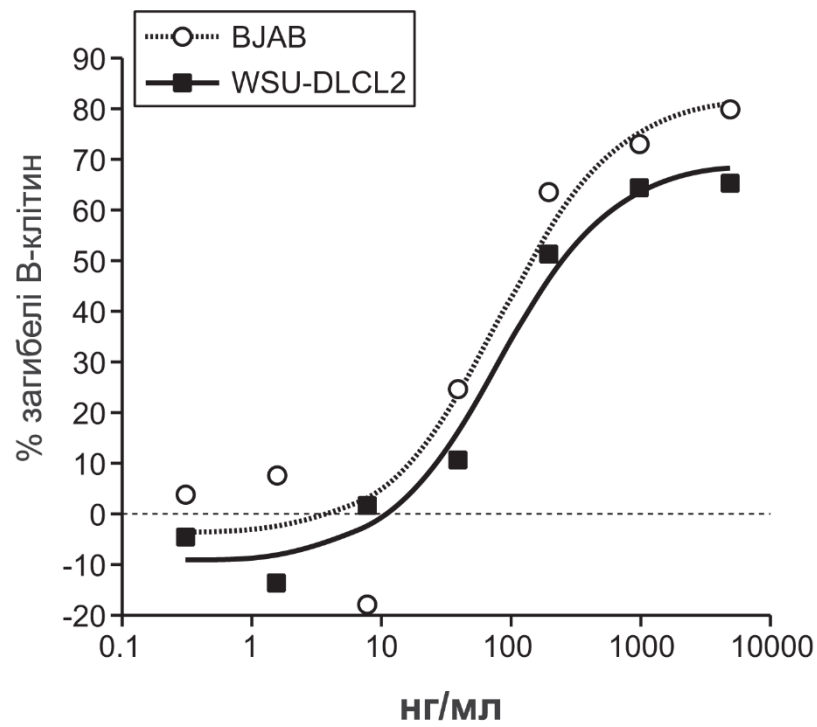
ФІГ. 4В-2



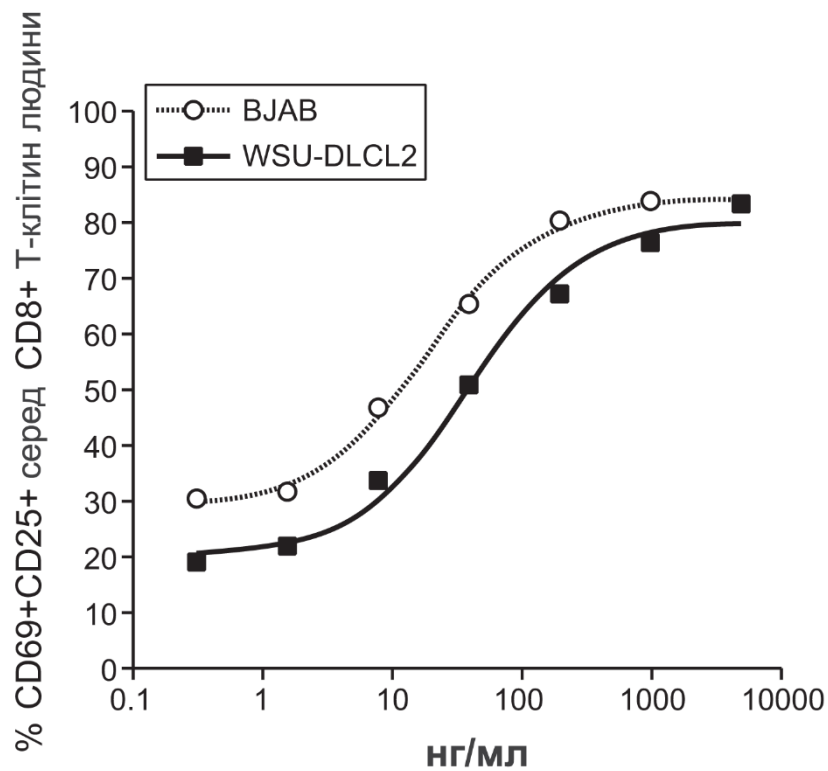
ФІГ. 5А



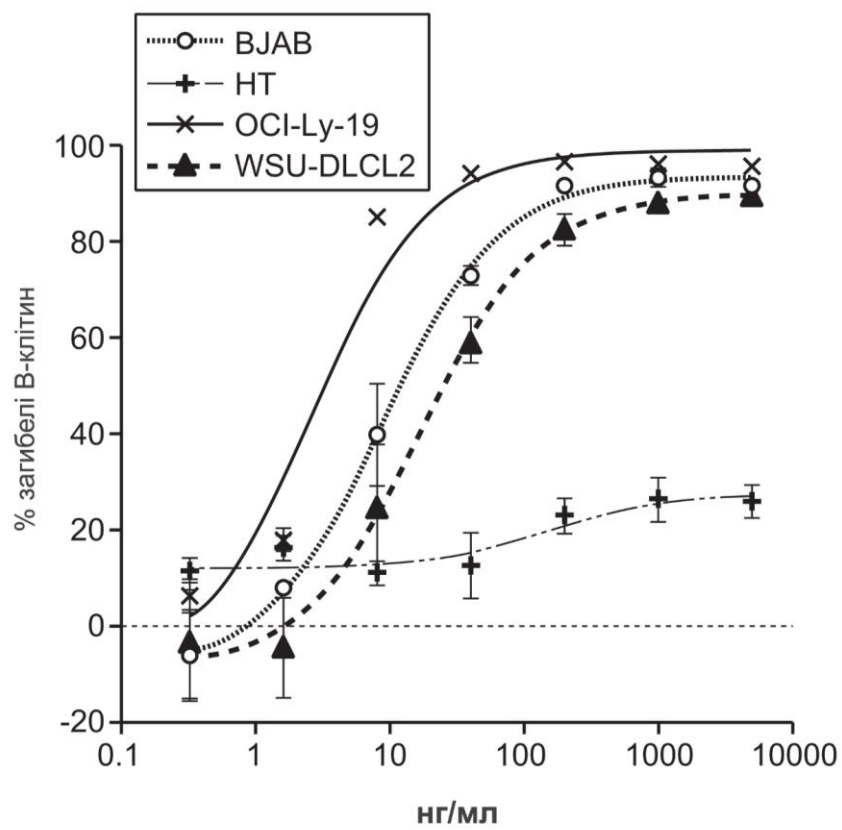
ФІГ. 5В



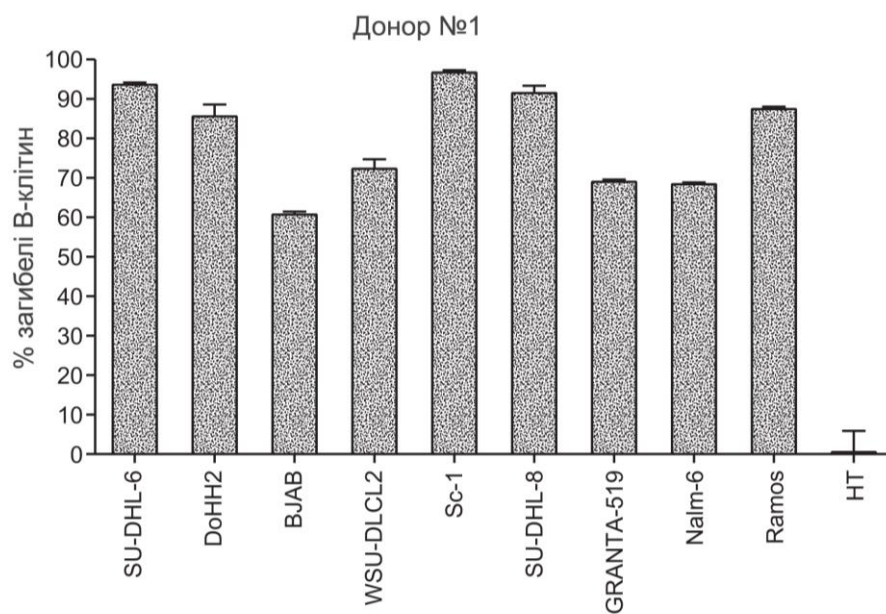
ФІГ. 6А



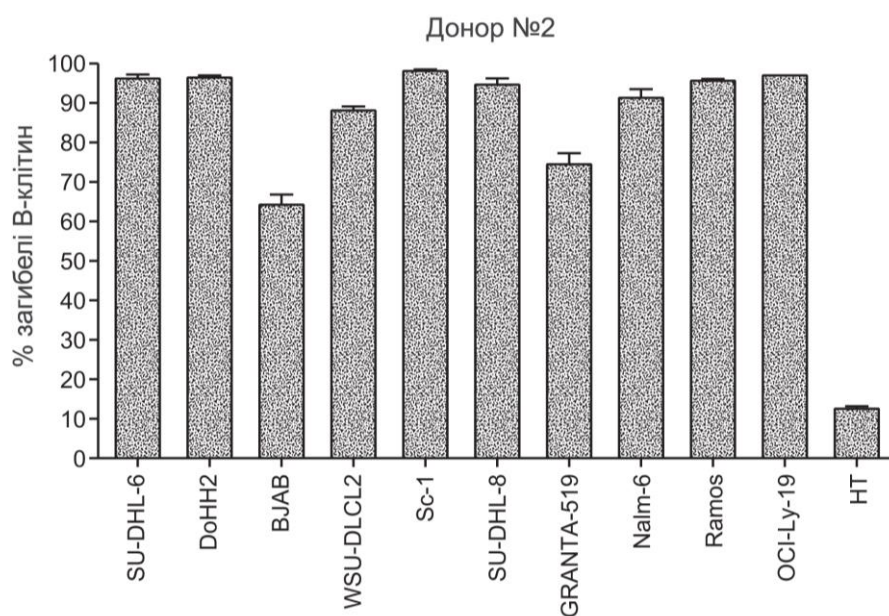
ФІГ. 6В



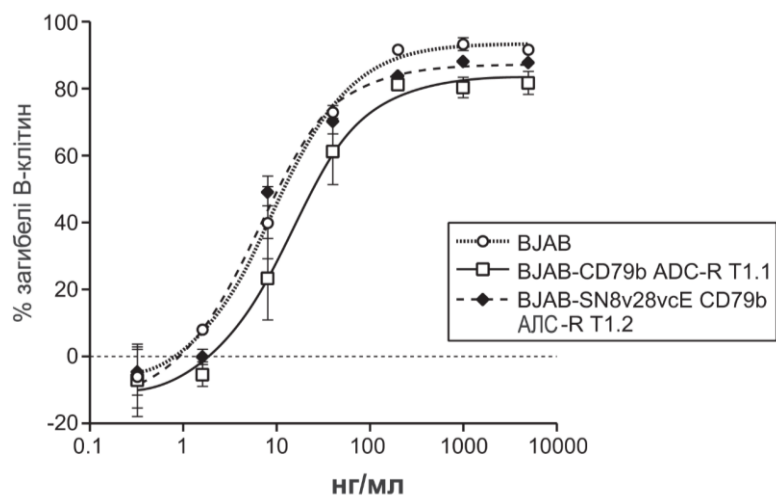
ФІГ. 7А



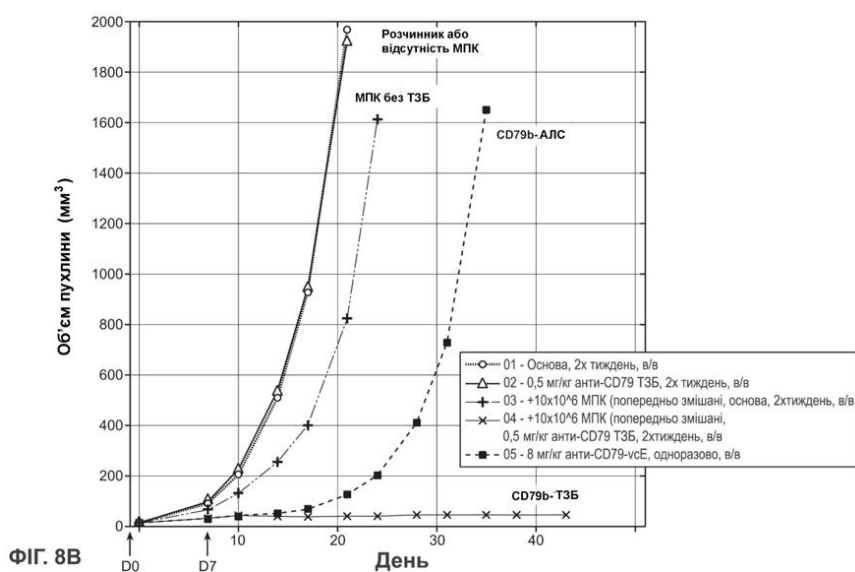
ФІГ. 7В



ФІГ. 7С



ФІГ. 8А



ФІГ. 8В

Комп'ютерна верстка В. Мацело

Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України,
вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601