



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

(21) BR 112020012554-7 A2



(22) Data do Depósito: 21/12/2018

(43) Data da Publicação Nacional: 24/11/2020

(54) Título: ANTICORPOS DE CADEIA PESADA QUE SE LIGAM A CD22

(51) Int. Cl.: C07K 16/28; A61P 35/00; A61K 39/00.

(30) Prioridade Unionista: 22/12/2017 US 62/609,759.

(71) Depositante(es): TENEOBIO, INC..

(72) Inventor(es): SHELLEY FORCE ALDRED; WIM VAN SCHOOTEN; HEATHER ANNE N. OGANA; LAURA MARIE DAVISON; KATHERINE HARRIS; UDAYA RANGASWAMY; NATHAN D. TRINKLEIN.

(86) Pedido PCT: PCT US2018067299 de 21/12/2018

(87) Publicação PCT: WO 2019/126756 de 27/06/2019

(85) Data da Fase Nacional: 19/06/2020

(57) Resumo: A presente invenção refere-se a anticorpos de cadeia pesada anti-CD22 (por exemplo, UniAbs™), juntamente com métodos para fabricar tais anticorpos, composições, incluindo composições farmacêuticas que compreendem tais anticorpos, e seu uso para tratar distúrbios de célula B que são caracterizados pela expressão de CD22.

SEQ aa CDB1	SEQ aa CDB2	SEQ aa CDB3
GGHSSGGVY (SEQ ID NO. 1)	PYRSVY (SEQ ID NO. 1)	TRFDSSNWS (SEQ ID NO. 19)
GGHSSGGVY (SEQ ID NO. 2)	PYRSGL (SEQ ID NO. 2)	TRFDSSNWS (SEQ ID NO. 19)
GGHSSGGVY (SEQ ID NO. 3)	PYRSGL (SEQ ID NO. 1)	TRFDSSNWS (SEQ ID NO. 20)
GGHSSVY (SEQ ID NO. 4)	PYRSGL (SEQ ID NO. 4)	TRFDSSNWS (SEQ ID NO. 21)
GGHSSVY (SEQ ID NO. 5)	VYVIGL (SEQ ID NO. 15)	KRFDSSNWS (SEQ ID NO. 22)
GGHSSVY (SEQ ID NO. 6)	HYRSGL (SEQ ID NO. 16)	KRFDSSNWS (SEQ ID NO. 23)
GGHSSVY (SEQ ID NO. 7)	PYRSGL (SEQ ID NO. 17)	
GGHSSVY (SEQ ID NO. 8)		
GGHSSVY (SEQ ID NO. 9)		
GGHSSVY (SEQ ID NO. 10)		

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**ANTI-CORPOS DE CADEIA PESADA QUE SE LIGAM A CD22**".

REFERÊNCIA CRUZADA A PEDIDOS RELACIONADOS

[001] Este pedido reivindica a prioridade da data de depósito do Pedido de Patente Provisório nº U.S. 62/609.759, depositado em sexta-feira, 22 de dezembro de 2017, cuja divulgação está incorporada no presente documento a título de referência em sua totalidade.

LISTAGEM DE SEQUÊNCIAS

[002] O presente pedido contém uma Listagem de Sequências que foi enviada eletronicamente em formato ASCII e é incorporada ao presente documento a título de referência, em sua totalidade. A dita cópia ASCII, criada em 7 de fevereiro de 2019, é nomeada TNO-0009-WO_SL.txt e tem 80.329 bytes em tamanho.

CAMPO DA INVENÇÃO

[003] A presente invenção refere-se a anticorpos humanos de cadeia pesada (por exemplo, UniAbsTM) que se ligam a CD22. A invenção se refere adicionalmente a métodos para fabricar tais anticorpos, composições, que incluem composições farmacêuticas, que compreendem tais anticorpos, e seu uso para tratar distúrbios de célula B que são caracterizados pela expressão de CD22.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

CD22

[004] CD22, também conhecido como SIGLEC-2 (UniProt P20273), é um receptor de superfície celular que é expressado em células B maduras. CD22 contém múltiplos domínios de Ig e é um membro da superfamília de imunoglobulina. O domínio extracelular de CD22 interage com porções químicas de ácido siálico, incluindo aquelas presentes na proteína de superfície celular CD45. CD22 é considerado por funcionar como um receptor inibidor para sinalização de receptor de célula B. Juntamente com CD20 e CD19, a expressão de

célula B restrita de CD22 torna o mesmo um alvo atraente para o tratamento terapêutico de malignidades de célula B. Os anticorpos monoclonais específicos para CD22 foram descritos na literatura (por exemplo, Jabbour, Elias, et al. "Monoclonal antibodies in acute lymphoblastic leukemia". *Blood* 125.26 (2015): 4010-4016) e têm sido usados terapêuticamente como monoclonais padrão (por exemplo, epratuzumab) assim como conjugados anticorpo-fármaco (inotuzumab ozogamicina). Além disto, as células T receptoras de antígeno quimérico anti-CD22 têm sido usadas na clínica para tratar leucemia (Fry, Terry J., et al. "CD22-targeted CAR T cells induce remission in B-ALL that is naive or resistant to CD19-targeted CAR immunotherapy". *Nature medicine* (2017)).

ANTICORPOS DE CADEIA PESADA

[005] Num anticorpo de IgG convencional, a associação da cadeia pesada e cadeia leve ocorre devido, em parte, a uma interação hidrofóbica entre a região constante de cadeia leve e o domínio constante de CH1 da cadeia pesada. Há resíduos adicionais nas regiões de framework 2 (FR2) e framework 4 (FR4) de cadeia pesada que também contribuem para esta interação hidrofóbica entre as cadeias pesada e leve.

[006] Sabe-se, no entanto, que os soros de camelídeos (subclasse Tylopoda que inclui camelos, dromedários e lamas) contêm um tipo principal de anticorpos compostos apenas por cadeias H pareadas (anticorpos somente de cadeia pesada ou UniAbsTM). Os UniAbsTM de *Camelidae* (*Camelus dromedarius*, *Camelus bactrianus*, *Lama glama*, *Lama guanaco*, *Lama alpaca* e *Lama vicugna*) têm uma estrutura única consistindo num único domínio variável (VHH), uma região de dobradiça e dois domínios constantes (CH2 e CH3), que são altamente homólogos aos domínios CH2 e CH3 dos anticorpos clássicos. Estes UniAbsTM não possuem o primeiro domínio da região constante (CH1)

que está presente no genoma, mas é separado durante o processamento do mRNA. A ausência do domínio CH1 explica a ausência da cadeia leve nos UniAbsTM, uma vez que este domínio é o local de ancoragem para o domínio constante da cadeia leve. Tais UniAbsTM naturalmente evoluíram para conferir especificidade de ligação a antígeno e alta afinidade por três CDRs a partir de anticorpos convencionais ou fragmentos dos mesmos (Muyldermans, 2001; *J Biotechnol* 74:277–302; Revets et al., 2005; *Expert Opin Biol Ther* 5:111–124). Os peixes cartilaginosos, como tubarões, também desenvolveram um tipo distinto de imunoglobulina, designada como IgNAR, que é desprovida das cadeias polipeptídicas leves e é composta inteiramente por cadeias pesadas. As moléculas IgNAR podem ser manipuladas por engenharia molecular para produzir o domínio variável de um único polipeptídeo de cadeia pesada (vNARs) (Nuttall et al. *Eur. J. Biochem.* 270, 3543-3554 (2003); Nuttall et al. *Function and Bioinformatics* 55, 187-197 (2004); Dooley et al., *Molecular Immunology* 40, 25-33 (2003)).

[007] A capacidade dos anticorpos apenas de cadeia pesada, desprovidos de cadeia leve, para se ligarem ao antígeno foi estabelecida na década de 1960 (Jaton et al. (1968) *Biochemistry*, 7, 4185-4195). A imunoglobulina de cadeia pesada fisicamente separada da cadeia leve reteve 80% da atividade de ligação ao antígeno em relação ao anticorpo tetramérico. Sitia et al. (1990) *Cell*, 60, 781-790 demonstraram que a remoção do domínio CH1 de um gene de camundongo μ rearranjado resulta na produção de um anticorpo apenas de cadeia pesada, desprovido de cadeia leve, em cultura de células de mamífero. Os anticorpos produzidos retiveram a especificidade de ligação a VH e as funções efetoras.

[008] Os anticorpos de cadeia pesada com alta especificidade e afinidade podem ser gerados contra uma variedade de antígenos através da imunização (van der Linden, R. H., et al. *Biochim. Biophys. Ac-*

ta. 1431, 37-46 (1999)) e a porção VHH pode ser prontamente clonada e expressa em levedura (Frenken, L. G. J., *et al. J. Biotechnol.* 78, 11-21 (2000)). Seus níveis de expressão, solubilidade e estabilidade são significativamente maiores que aqueles dos fragmentos clássicos F(ab) ou Fv (Ghahroudi, M. A. *et al. FEBS Lett.* 414, 521-526 (1997)).

[009] Os camundongos em que o locus de cadeia leve (L) λ (lambda) e/ou os loci de cadeia L λ e κ (capa) foram funcionalmente silenciados e os anticorpos produzidos por tais camundongos são descritos nos documentos de Patente nº U.S. 7.541.513 e 8.367.888. Produção recombinante de anticorpos apenas de cadeia pesada em camundongos e ratos foi relatada, por exemplo, no documento nº WO2006008548; na Publicação de Pedido de Patente nº U.S. 20100122358; Nguyen *et al.*, 2003, *Immunology*; 109(1), 93-101; Brüggemann *et al.*, *Crit. Rev. Immunol.*; 2006, 26(5):377-390; e Zou *et al.*, 2007, *J Exp Med*; 204(13): 3271–3283. A produção de ratos knockout por meio de microinjeções de embriões de nucleases de dedo de zinco é descrita em Geurts *et al.*, 2009, *Science*, 325(5939):433. Os anticorpos apenas de cadeia pesada solúveis e roedores transgênicos que compreendem um locus de cadeia pesada heterólogo que produz tais anticorpos são descritos nos documentos de Patente nº U.S. 8.883.150 e 9.365.655. As estruturas CAR-T que compreendem anticorpos de domínio único como domínio de ligação (alvejamento) são descritas, por exemplo, em Iri-Sofla *et al.*, 2011, *Experimental Cell Research* 317:2630-2641 e Jamnani *et al.*, 2014, *Biochim Biophys Acta*, 1840:378-386.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[0010] Os aspectos da invenção se referem a anticorpos de cadeia pesada, incluindo, mas sem limitação, UniAbs™, com afinidade de ligação a CD22. Os aspectos adicionais da invenção se referem a métodos para fabricar tais anticorpos, composições que compreendem

tais anticorpos e seu uso no tratamento de distúrbios de célula B que são caracterizados pela expressão de CD22.

[0011] Em algumas modalidades, a anticorpo apenas de cadeia pesada que se liga a CD22 compreende uma região variável de cadeia pesada que compreende: (a) uma CDR1 que tem duas ou menos substituições em qualquer uma das sequências de aminoácidos de SEQ ID NOs: 1 a 10; e/ou (b) uma CDR2 que tem duas ou menos substituições em qualquer uma das sequências de aminoácidos de SEQ ID NOs: 11 a 17; e/ou (c) uma CDR3 que tem duas ou menos substituições em qualquer uma das sequências de aminoácidos de SEQ ID NOs: 18 a 23. Em algumas modalidades, as sequências CDR1, CDR2 e CDR3 estão presentes num framework humano. Em algumas modalidades, um anticorpo apenas de cadeia pesada compreende adicionalmente uma sequência de região constante de cadeia pesada na ausência de uma sequência CH1.

[0012] Em algumas modalidades, um anticorpo apenas de cadeia pesada compreende: (a) uma sequência de CDR1 selecionada a partir do grupo consistindo em SEQ ID NOs: 1 a 10; e/ou (b) uma sequência de CDR2 selecionada a partir do grupo consistindo em SEQ ID NOs: 11 a 17; e/ou (c) uma sequência de CDR3 selecionada a partir do grupo consistindo em SEQ ID NOs: 18 a 23. Em algumas modalidades, um anticorpo apenas de cadeia pesada compreende: (a) uma sequência de CDR1 selecionada a partir do grupo consistindo em SEQ ID NOs: 1 a 10; e (b) uma sequência de CDR2 selecionada a partir do grupo consistindo em SEQ ID NOs: 11 a 17; e (c) uma sequência de CDR3 selecionada a partir do grupo consistindo em SEQ ID NOs: 18 a 23.

[0013] Em algumas modalidades, um anticorpo apenas de cadeia pesada compreende: (a) uma sequência de CDR1 de SEQ ID NO: 1, uma sequência de CDR2 de SEQ ID NO: 11 e uma sequência de

CDR3 de SEQ ID NO: 18; ou (b) uma sequência de CDR1 de SEQ ID NO: 1, uma sequência de CDR2 de SEQ ID NO: 12 e uma sequência de CDR3 de SEQ ID NO: 19; ou (c) uma sequência de CDR1 de SEQ ID NO: 1, uma sequência de CDR2 de SEQ ID NO: 12 e uma sequência de CDR3 de SEQ ID NO: 20. Em algumas modalidades, um anticorpo apenas de cadeia pesada compreende uma região variável de cadeia pesada que tem pelo menos 95% de identidade de sequência com qualquer uma das sequências das SEQ ID NOs: 24 a 84. Em algumas modalidades, um anticorpo apenas de cadeia pesada compreende uma sequência de região variável de cadeia pesada selecionada a partir do grupo consistindo em SEQ ID NOs: 24 a 84. Em algumas modalidades, um anticorpo apenas de cadeia pesada compreende uma sequência de região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 24.

[0014] Em algumas modalidades, um anticorpo apenas de cadeia pesada que se liga a CD22 compreende uma região variável de cadeia pesada que compreende uma cadeia pesada variável que compreende (a) uma sequência de CDR1 da fórmula:

$$G X_1 S I X_2 X_3 X_4 X_5 X_6 Y \text{ (SEQ ID NO: 85)}$$

onde X_1 é D ou G; X_2 é S, T, I ou N; X_3 é S ou D; X_4 é G, S ou N; X_5 é D, G ou S; e X_6 é Y ou H; e (b) uma sequência de CDR2 da fórmula:

$$X_7 X_8 Y X_9 G X_{10} X_{11} \text{ (SEQ ID NO: 86)}$$

onde X_7 é I ou V; X_8 é Y ou H; X_9 é S ou T; X_{10} é A, V ou S; e X_{11} é T ou A; e (c) uma sequência de CDR3 da fórmula:

$$X_{12} R X_{13} D S S X_{14} W R S \text{ (SEQ ID NO: 87)}$$

onde X_{12} é T, A ou K; X_{13} é D ou E; e X_{14} é N ou S.

[0015] Em algumas modalidades, um anticorpo apenas de cadeia pesada que se liga a CD22 compreende uma região variável de cadeia pesada que compreende sequências de CDR1, CDR2 e CDR3 num framework de VH humano, em que as sequências de CDR são uma

sequência que têm duas ou menos substituições numa sequência de CDR selecionada a partir do grupo consistindo em SEQ ID NOs:1 a 23.

[0016] Numa modalidade, o anticorpo apenas de cadeia pesada compreende uma região variável de cadeia pesada que compreende sequências de CDR1, CDR2 e CDR3 num framework de VH humano, em que as sequências de CDR são selecionadas do grupo que consiste em SEQ ID NOs:1 a 23.

[0017] Em algumas modalidades, a anticorpo apenas de cadeia pesada que se liga a CD22 compreende uma região variável de cadeia pesada que compreende: (a) uma sequência de CDR1 de SEQ ID NO: 1, uma sequência de CDR2 de SEQ ID NO: 11 e uma sequência de CDR3 de SEQ ID NO: 18; ou (b) uma sequência de CDR1 de SEQ ID NO: 1, uma sequência de CDR2 de SEQ ID NO: 12 e uma sequência de CDR3 de SEQ ID NO: 19; ou (c) uma sequência de CDR1 de SEQ ID NO: 1, uma sequência de CDR2 de SEQ ID NO: 12 e uma sequência de CDR3 de SEQ ID NO: 20, num framework de VH humano.

[0018] Em algumas modalidades, um anticorpo apenas de cadeia pesada é multiespecífico. Em algumas modalidades, um anticorpo apenas de cadeia pesada é biespecífico. Em algumas modalidades, um anticorpo apenas de cadeia pesada tem afinidade de ligação com duas proteínas de CD22 diferentes. Em algumas modalidades, um anticorpo apenas de cadeia pesada tem afinidade de ligação a dois epítopos diferentes na mesma proteína de CD22. Em algumas modalidades, o anticorpo apenas de cadeia pesada tem afinidade de ligação com uma célula efetora. Em algumas modalidades, um anticorpo apenas de cadeia pesada tem afinidade de ligação com um antígeno de célula T. Em algumas modalidades, um anticorpo apenas de cadeia pesada tem afinidade de ligação com CD3. Em algumas modalidades, um anticorpo apenas de cadeia pesada está num formato CAR-T.

[0019] Os aspectos da invenção se referem a composições farmacêuticas que compreendem um anticorpo apenas de cadeia pesada descrito no presente documento.

[0020] Os aspectos da invenção se referem a métodos para o tratamento de um distúrbio de célula B caracterizado pela expressão de CD22 que compreende administrar a um indivíduo com o dito distúrbio um anticorpo ou uma composição farmacêutica descrita no presente documento. Em certos outros aspectos, a invenção se refere a usos de um anticorpo descrito no presente documento, na preparação de um medicamento para o tratamento de um distúrbio de célula B caracterizado pela expressão de CD22. Em ainda outros aspectos, a invenção se refere a um anticorpo descrito no presente documento, para uso no tratamento de um distúrbio de célula B caracterizado pela expressão de CD22. Em relação a estes aspectos, e em algumas modalidades, o distúrbio é linfoma de célula B grande difusa (DLBCL). Em algumas modalidades, o distúrbio é linfoma não Hodgkin (NHL). Em algumas modalidades, o distúrbio é lúpus eritematoso sistêmico (SLE). Em algumas modalidades, o distúrbio é artrite reumatoide (RA). Em algumas modalidades, o distúrbio é esclerose múltipla (MS).

[0021] Os aspectos da invenção se referem a polinucleotídeos que codificam um anticorpo descrito no presente documento, vetores que compreendem tais polinucleotídeos e células que compreendem tais vetores.

[0022] Os aspectos da invenção se referem a métodos para produzir um anticorpo descrito no presente documento que compreende cultivar uma célula descrita no presente documento sob condições permissíveis para a expressão do anticorpo e isolar o anticorpo da célula.

[0023] Aspectos da invenção se referem a métodos para fabricar um anticorpo descrito no presente documento que compreendem imu-

nizar um animal UniRat com CD22 e identificar sequências de cadeia pesada de ligação de CD22.

[0024] Estes e outros aspectos serão adicionalmente explicados no restante da revelação, incluindo os Exemplos.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

[0025] A Figura 1 mostra sequências de aminoácidos de CDR única de anticorpo de cadeia pesada anti-CD22.

[0026] A Figura 2 mostra sequências de aminoácidos de domínio variável de anticorpo de cadeia pesada anti-CD22.

[0027] A Figura 3 mostra sequências de aminoácidos de CDR1, CDR2 e CDR3 de anticorpo de cadeia pesada anti-CD22.

[0028] A Figura 4 mostra atividades biológicas de anticorpo de cadeia pesada anti-CD22.

[0029] A Figura 5A é um gráfico que representa a porcentagem de lise específica como uma função de concentração de anticorpo para células Daudi.

[0030] A Figura 5B é um gráfico que representa a porcentagem de lise específica como uma função de concentração de anticorpo para células Raji.

[0031] A Figura 5C é um gráfico que representa a porcentagem de lise específica como uma função de concentração de anticorpo para células Ramos.

[0032] A Figura 5D é uma ilustração esquemática de um anti-CD22 x anti-CD3 biespecífico de acordo com uma modalidade da invenção.

[0033] A Figura 6 é uma série de gráficos que mostra o título de soro como uma função de diluição.

DESCRIÇÃO DETALHADA DAS MODALIDADES PREFERENCIAIS

[0034] A prática da presente invenção vai empregar, a menos que indicado o contrário, as técnicas convencionais de biologia molecular

(incluindo técnicas de recombinação), microbiologia, biologia celular, bioquímica e imunologia, as quais encontram-se dentro do estado da técnica. Tais técnicas são descritas por completo na literatura, tal como, "Molecular Cloning: A Laboratory Manual", segunda edição (Sambrook et al., 1989); "Oligonucleotide Synthesis" (M. J. Gait, ed., 1984); "Animal Cell Culture" (R. I. Freshney, ed., 1987); "Methods in Enzymology" (Academic Press, Inc.); "Current Protocols in Molecular Biology" (F. M. Ausubel et al., eds., 1987, e atualizações periódicas); "PCR: The Polymerase Chain Reaction", (Mullis et al., ed., 1994); "A Practical Guide to Molecular Cloning" (Perbal Bernard V., 1988); "Phage Display: A Laboratory Manual" (Barbas et al., 2001); Harlow, Lane e Harlow, Using Antibodies: A Laboratory Manual: Portable Protocol No. 1, Cold Spring Harbor Laboratory (1998); e Harlow e Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory; (1988).

[0035] Em que uma faixa de valores é fornecida, é compreendido que cada valor interveniente, ao décimo da unidade do limite inferior, a menos que o contexto dite claramente de outra forma, entre os limites superior e inferior desta faixa e qualquer outro valor declarado ou interveniente nesta faixa declarada é abrangido pela invenção. Os limites superior e inferior destas faixas menores poderem independentemente ser incluídos nas faixas menores também é abrangido pela invenção, sujeito a qualquer limite especificamente excluído na faixa indicada. Nos casos em que a faixa mencionada inclui um ou ambos os limites, as faixas que excluem um ou ambos destes limites incluídos também estão incluídas na invenção.

[0036] Exceto onde indicado em contrário, os resíduos de anticorpos no presente documento são numerados de acordo com o sistema de numeração de Kabat (por exemplo, Kabat et al., Sequences of Immunological Interest 5ª Edição, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)).

[0037] Na seguinte descrição, inúmeros detalhes específicos são apresentados para fornecer uma compreensão mais completa da presente invenção. No entanto, ficará evidente para aqueles versados na técnica que a presente invenção pode ser praticada sem um ou mais destes detalhes específicos. Em outros casos, características bem conhecidas e procedimentos bem conhecidos por aqueles versados na técnica não foram descritos a fim de não obscurecer a invenção.

[0038] Todas referências citadas ao longo da divulgação, incluindo pedidos de patente e publicações, estão incorporadas ao presente documento a título de referência em sua totalidade.

I. DEFINIÇÕES

[0039] O termo "compreender" significa que os elementos citados são necessários na composição/método/kit, mas outros elementos podem ser incluídos para formar a composição/método/kit etc. dentro do escopo da reivindicação.

[0040] O termo "consistir essencialmente em" significa uma limitação do escopo da composição ou método descrito aos materiais ou etapas especificadas que não afetam substancialmente a característica (ou características) básica e nova da presente invenção.

[0041] O termo "consistir em" significa a exclusão da composição, método ou kit de qualquer elemento, etapa ou ingrediente não especificado na reivindicação.

[0042] Os resíduos de anticorpo no presente documento são enumerados de acordo com o sistema de numeração Kabat e o sistema de numeração EU. O sistema de numeração Kabat é geralmente usado em referência a um resíduo no domínio variável (aproximadamente resíduos 1 a 113 da cadeia pesada) (*por exemplo*, Kabat *et al.*, Sequences of Immunological Interest. 5ª Edição, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)). O "sistema de numeração EU" ou "índice EU" é geralmente usado ao se referir a um

resíduo numa região constante de cadeia pesada de imunoglobulina (por exemplo, o índice EU relatado em Kabat et al., supra). O "índice EU como em Kabat" refere-se à numeração de resíduo do anticorpo IgG1 EU humano. Exceto se estabelecido de outro modo no presente documento, as referências aos números de resíduos no domínio variável de anticorpos significam a numeração de resíduos pelo sistema de numeração de Kabat. Exceto se estabelecido de outro modo no presente documento, as referências aos números de resíduos no domínio constante de anticorpos significam a numeração de resíduos pelo sistema de numeração de EU.

[0043] O termo "anticorpo monoclonal", como usado neste documento, se refere a um anticorpo obtido a partir de uma população de anticorpos substancialmente homogêneos, isto é, os anticorpos individuais que compreendem a população são idênticos exceto pelas mutações de ocorrência natural possíveis podem estar presentes em quantidades menores. Os anticorpos monoclonais são altamente específicos, sendo diretamente contra a um sítio antigênico único. Adicionalmente, em contraste com as preparações de anticorpo (policlonal) convencionais que tipicamente incluem diferentes anticorpos dirigidos contra diferentes determinantes (epitopos), cada anticorpo monoclonal é dirigido contra um único determinante no antígeno. Os anticorpos monoclonais de acordo com a presente invenção podem ser produzidos pelo método de hibridoma primeiro descritos por Kohler et al. (1975) *Nature* 256:495, e também podem ser feitos por meio de métodos de produção de proteína recombinante (consultar, por exemplo, Patente nº U.S. 4.816.567), por exemplo.

[0044] O termo "variável", como usado em conexão com anticorpos, se refere ao fato de que certas porções dos domínios variáveis de anticorpo se diferem extensivamente em sequência entre anticorpos e são usadas na ligação e especificidade de cada anticorpo particular

para seu antígeno particular. No entanto, a variabilidade não está distribuída uniformemente pelos domínios variáveis de anticorpos. A mesma está concentrada em três segmentos chamados regiões hipervariáveis tanto nos domínios variáveis de cadeia leve como de cadeia pesada. As porções mais altamente conservadas de domínios variáveis são chamadas regiões de estrutura (FRs). Os domínios variáveis de cadeias leves e pesadas nativas compreendem, cada um, quatro FRs, que adotam amplamente uma configuração β -folha, conectada por três regiões hipervariáveis, que formam alças que conectam, e em alguns casos, formam parte da estrutura de β -folha. As regiões hipervariáveis em cada cadeia são mantidas em conjunto em estreita proximidade com as FRs e, com as regiões hipervariáveis da outra cadeia, contribuem para a formação do sítio de ligação ao antígeno de anticorpos (consulte Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5ª Edição Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)). Os domínios constantes não estão envolvidos diretamente na ligação de um anticorpo a um antígeno, mas exibem diversas funções efetoras, como a participação do anticorpo na citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC).

[0045] O termo "região hipervariável", quando usado no presente documento, se refere aos resíduos de aminoácido de um anticorpo que são responsáveis pela ligação ao antígeno. A região hipervariável geralmente compreende resíduos de aminoácidos de uma "região determinante de complementaridade" ou "CDR" (por exemplo, resíduos 31-35 (H1), 50-65 (H2) e 95-102 (H3) no domínio variável de cadeia pesada; Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5ª edição, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)) e/ou aqueles resíduos de uma "alça hipervariável", resíduos 26-32 (H1), 53-55 (H2) e 96-101 (H3) no domínio variável de cadeia pesada; Chothia e Lesk *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)). Os

resíduos de "região de framework" ou "FR" são aqueles resíduos de domínio variável além dos resíduos de região hipervariável conforme definido no presente documento.

[0046] As designações de CDR exemplificativas são mostradas no presente documento, no entanto, um versado na técnica entenderá que várias definições das CDRs estão comumente em uso, incluindo a definição de Kabat (ver "Zhao et al. A germline knowledge based computational approach for determining antibody complementarity determining regions". *Mol Immunol.* 2010;47:694–700), que é com base na variabilidade de sequência e é mais comumente usada. A definição de Chothia é com base na localização das regiões de alça estruturais (Chothia et al. "Conformations of immunoglobulin hypervariable regions". *Nature.* 1989; 342:877–883). As definições de CDR alternativas de interesse incluem, sem limitação, aquelas divulgadas por Honnegger, "Yet another numbering scheme for immunoglobulin variable domains: an automatic modeling and analysis tool". *J Mol Biol.* 2001;309:657–670; Ofran et al. "Automated identification of complementarity determining regions (CDRs) reveals peculiar characteristics of CDRs and B cell epitopes". *J Immunol.* 2008;181:6230–6235; Almagro "Identification of differences in the specificity-determining residues of antibodies that recognize antigens of different size: implications for the rational design of antibody repertoires". *J Mol Recognit.* 2004;17:132–143; e Padlan et al. "Identification of specificity-determining residues in antibodies". *Faseb J.* 1995;9:133–139, cada uma destas está especificamente incorporada a título de referência no presente documento.

[0047] Os termos "anticorpo apenas de cadeia pesada", e "anticorpo de cadeia pesada" são usados de modo intercambiável no presente documento e se referem, no sentido mais amplo, a anticorpos desprovidos da cadeia leve de um anticorpo convencional. Os termos

incluem especificamente, sem limitação, anticorpos homodiméricos que compreendem o domínio de ligação ao antígeno VH e os domínios constantes CH2 e CH3, na ausência do domínio CH1; variantes funcionais (ligação ao antígeno) de tais anticorpos, variantes VH solúveis, Ig-NAR que compreende um homodímero de um domínio variável (V-NAR) e cinco domínios constantes do tipo C (C-NAR) e fragmentos funcionais dos mesmos; e anticorpos solúveis de domínio único (sUni-Dabs™). Numa modalidade, o anticorpo apenas de cadeia pesada é composto do domínio de ligação ao antígeno de região variável composto da estrutura 1, CDR1, estrutura 2, CDR2, estrutura 3, CDR3, e estrutura 4. Numa outra modalidade, o anticorpo apenas de cadeia pesada é composto de um domínio de ligação ao antígeno, pelo menos parte de uma região de dobradiça e domínios CH2 e CH3. Numa outra modalidade, o anticorpo apenas de cadeia pesada é composto de um domínio de ligação ao antígeno, pelo menos parte de uma região de dobradiça e um domínio CH2. Numa modalidade adicional, o anticorpo apenas de cadeia pesada é composto de um domínio de ligação ao antígeno, pelo menos parte de uma região de dobradiça e um domínio CH3. Os anticorpos apenas de cadeia pesada em que o domínio CH2 e/ou CH3 estão truncados também estão incluídos no presente documento. Numa modalidade adicional, a cadeia pesada é composta de um domínio de ligação ao antígeno e pelo menos um domínio CH (CH1, CH2, CH3 ou CH4), mas nenhuma região de dobradiça. O anticorpo apenas de cadeia pesada pode ser sob a forma de um dímero, em que duas cadeias pesadas são ligadas umas às outras por dissulfeto ou, de outro modo, covalentemente ou não covalentemente. O anticorpo apenas da cadeia pesada pode pertencer à subclasse de IgG, mas os anticorpos que pertencem a outras subclasses, como a subclasse IgM, IgA, IgD e IgE, também estão incluídos no presente documento. Numa modalidade particular, o anticorpo de cadeia pesada é

do subtipo IgG1, IgG2, IgG3 ou IgG4, em particular, o subtipo IgG1. Numa modalidade, os anticorpos apenas de cadeia pesada no presente documento são usados como um domínio de ligação (alvejamento) de um receptor de antígeno quimérico (CAR). A definição especificamente inclui anticorpos humanos apenas de cadeia pesada produzidos por ratos transgênicos de imunoglobulina humana (UniRatTM), chamado UniAbsTM. As regiões variáveis (VH) de UniAbsTM são chamadas UniDabsTM e são blocos de construção versáteis que podem ser ligados a regiões Fc ou albumina de soro para o desenvolvimento de agentes terapêuticos inovadores com multiespecificidade, potência aumentada e meia vida estendida. Uma vez que os UniAbsTM homodiméricos são desprovidos de uma cadeia leve e, desta forma, um domínio VL, o antígeno é reconhecido por um único domínio, isto é, o domínio variável da cadeia pesada de um anticorpo de cadeia pesada (VH).

[0048] Os termos "CD22" e "agrupamento de diferenciação 22", conforme usado no presente documento, se referem a uma molécula que pertence à família SIGLEC de lectinas, encontrada na superfície de células B maduras, e a um menor grau em algumas células B imaturas. O termo "CD22" inclui uma proteína de CD22 de qualquer espécie animal humana e não humana, e especificamente inclui CD22 humana assim como CD22 de mamíferos não humanos.

[0049] O termo "CD22 humana" como usado no presente documento inclui quaisquer variantes, isoformas e espécies homólogas de CD22 humana (UniProt P20273), independentemente de sua fonte ou modo de preparação. Assim, a "CD22 humana" inclui CD22 humana naturalmente expressada por células e CD22 expressada em células transfectadas com o gene de CD22 humana.

[0050] Os termos "anticorpo anti-CD22 apenas de cadeia pesada", "anticorpo de CD22 apenas de cadeia pesada", "anticorpo anti-CD22

de cadeia pesada" e "anticorpo de CD22 de cadeia pesada" são usados no presente documento de modo intercambiável para fazer referência a um anticorpo apenas de cadeia pesada como definido acima no presente documento, que se liga de modo imuno específico a CD22, incluindo CD22 humana, como definido acima no presente documento. A definição inclui, sem limitação, anticorpos humanos de cadeia pesada produzidos por animais transgênicos, como ratos transgênicos ou camundongos transgênicos que expressam imunoglobulina humana, incluindo UniRats™ produzindo anticorpos de UniAb™ anti-CD22 humanos, como definido acima no presente documento.

[0051] A "porcentagem (%) de identidade de sequência de aminoácidos" no que diz respeito a uma sequência de polipeptídeos de referência é definida como a porcentagem de resíduos de aminoácidos numa sequência candidata que são idênticos aos resíduos de aminoácidos na sequência de polipeptídeos de referência, após alinhamento das sequências e introdução de intervalos, se necessário, para se alcançar a máxima identidade de percentagem de sequência, e não considerando quaisquer substituições conservativas como parte da identidade de sequência. O alinhamento para propósitos de determinação da porcentagem de identidade de sequência de aminoácidos pode ser alcançado de vários modos que estão dentro da habilidade na técnica, por exemplo, usando um software de computador comercialmente disponível tal como o software BLAST, BLAST-2, ALIGN ou Megalign (DNASTAR). Aqueles versados na técnica podem determinar os parâmetros apropriados para alinhar as sequências, incluindo quaisquer algoritmos necessários para alcançar o alinhamento máximo ao longo do comprimento total das sequências sendo comparadas. Para os propósitos no presente documento, entretanto, a % de valores de identidade de sequência de aminoácidos é gerada com o uso do programa de computador de comparação de sequências ALIGN-2.

[0052] Um anticorpo "isolado" é um que foi identificado e separado e/ou recuperado de um componente de seu ambiente natural. Os componentes contaminantes de seu ambiente natural são materiais que interfeririam nos usos de diagnóstico ou terapêuticos para o anticorpo, e podem incluir enzimas, hormônios e outros solutos proteicos ou não proteicos. Em modalidades preferenciais, o anticorpo será purificado (1) a mais de 95% em peso do anticorpo, conforme determinado pelo método de Lowry e, mais preferencialmente, mais de 99% em peso, (2) a um grau suficiente para obter pelo menos 15 resíduos de sequência de aminoácidos N-terminal ou interna através do uso de um sequenciador de copo giratório ou (3) à homogeneidade por SDS-PAGE sob condições de redução ou não redução usando corante azul de Coomassie ou, preferencialmente, prata. O anticorpo isolado inclui o anticorpo *in situ* em células recombinantes visto que pelo menos um componente do ambiente natural de anticorpo não estará presente. Normalmente, no entanto, o anticorpo isolado será preparado por pelo menos uma etapa de purificação.

[0053] Os anticorpos da invenção incluem anticorpos multiespecíficos. Os anticorpos multiespecíficos possuem mais de uma especificidade de ligação. O termo "multiespecífico" inclui especificamente "biespecífico" e "triespecífico", bem como afinidades de ligação específica independentes de ordem superior, como especificidade poliepitópica de ordem superior, bem como anticorpos tetravalentes e fragmentos de anticorpos. Os anticorpos "multiespecíficos" incluem especificamente anticorpos que compreendem uma combinação de diferentes entidades de ligação, bem como anticorpos que compreendem mais do que uma da mesma entidade de ligação. Os termos "anticorpo multiespecífico", "anticorpo multiespecífico apenas de cadeia pesada", "anticorpo de cadeia pesada multiespecífico" e "UniAb™ multiespecífico" são usados no presente documento no sentido mais amplo e cobrem

todos os anticorpos com mais de uma especificidade de ligação. Os anticorpos anti-CD22 multiespecíficos de cadeia pesada da presente invenção incluem especificamente anticorpos que se ligam de modo imuno-específico a mais de um epítopos sem sobreposição numa proteína de CD22, como uma CD22 humana.

[0054] Um "epítopo" é o sítio sobre a superfície de uma molécula de antígeno ao qual uma única molécula de anticorpo se liga. Geralmente, um antígeno tem vários ou muitos epítopos diferentes e reage com muitos anticorpos diferentes. O termo inclui especificamente epítopos lineares e epítopos conformacionais.

[0055] "Mapeamento de epítopo" é o processo de identificar os sítios de ligação ou epítopos de anticorpos em seus antígenos-alvo. Os epítopos de anticorpo podem ser epítopos lineares ou epítopos conformacionais. Os epítopos lineares são formados por uma sequência contínua de aminoácidos numa proteína. Os epítopos conformacionais são formados por aminoácidos que são descontínuos na sequência proteica, mas que são reunidos após o enovelamento da proteína em sua estrutura tridimensional.

[0056] "Especificidade poliepítópica" se refere à capacidade de se ligar especificamente a dois ou mais epítopos diferentes no mesmo alvo ou em alvo (ou alvos) diferente. Conforme observado acima, a presente invenção inclui especificamente anticorpos de cadeia pesada anti-CD22 com especificidades poliepítópicas, isto é, anticorpos de cadeia pesada anti-CD22 que se liga a dois ou mais epítopos não sobrepostos numa proteína de CD22, como um CD22 humano. O termo "epítopo não sobreposto (ou epítopos não sobrepostos)" ou "epítopo não competitivo (ou epítopos não competitivos)" de um antígeno é definido no presente documento para significar epítopo (ou epítopos) que é reconhecido por um membro de um par de anticorpos específicos de antígeno, mas não o outro membro. Pares de anticorpos, ou região de

ligação a antígeno que alvejam o mesmo antígeno num anticorpo multiespecífico, reconhecendo epitopos sem sobreposição não competem pela ligação a tal antígeno e são capazes de ligarem tal antígeno simultaneamente.

[0057] Um anticorpo liga "essencialmente o mesmo epitopo" como um anticorpo de referência, quando os dois anticorpos reconhecem epitopos idênticos ou sobreponíveis estereoquimicamente. Os métodos mais amplamente utilizados e rápidos para determinar se dois epitopos se ligam a epitopos idênticos ou estereotipados são ensaios de competição, que podem ser configurados em todos os diferentes formatos, usando antígeno marcado ou anticorpo marcado. Normalmente, o antígeno é imobilizado numa placa de 96 poços e a capacidade de anticorpos não marcados para bloquear a ligação de anticorpos marcados é medida usando marcadores radioativos ou enzimáticos.

[0058] O termo "valente", tal como aqui utilizado, refere-se a um número especificado de sítio de ligação numa molécula de anticorpo.

[0059] Um anticorpo "multivalente" tem dois ou mais sítios de ligação. Desta forma, os termos "bivalente", "trivalente" e "tetraivalente" se referem à presença de dois sítios de ligação, três sítios de ligação e quatro sítios de ligação, respectivamente. Desta forma, um anticorpo biespecífico de acordo com a invenção é pelo menos bivalente e pode ser trivalente, tetraivalente ou de outro modo multivalente.

[0060] Uma grande variedade de métodos e configurações proteicas é conhecida e usada para a preparação de anticorpos monoclonais biespecíficos (BsMAB), anticorpos triespecíficos e similares.

[0061] O termo "molécula semelhante a anticorpo biespecífico de três cadeias" ou "TCA" é usado no presente documento para se referir a moléculas semelhantes a anticorpo que compreendem, consistem essencialmente em ou consistem em três subunidades polipeptídicas, duas das quais compreendem, consistem essencialmente em, ou con-

sistem numa cadeia pesada e uma cadeia leve de um anticorpo monoclonal, ou fragmentos funcionais de ligação ao antígeno de tais cadeias de anticorpo, que compreendem uma região de ligação ao antígeno e pelo menos um domínio CH. Este par de cadeia pesada/cadeia leve tem especificidade de ligação para um primeiro antígeno. A terceira subunidade polipeptídica compreende, consiste essencialmente em ou consiste num anticorpo apenas de cadeia pesada que compreende uma porção Fc que compreende domínios CH2 e/ou CH3 e/ou CH4, na ausência de um domínio CH1, e um domínio de ligação ao antígeno que se liga a um epitopo de um segundo antígeno ou um epitopo diferente do primeiro antígeno, em que tal domínio de ligação é derivado de ou tem identidade de sequência com a região variável de uma cadeia pesada ou leve de anticorpo. Parte de tal região variável podem ser codificadas por segmentos de gene de V_H e/ou V_L, segmentos de gene D e J_H ou segmentos de gene de J_L. A região variável pode ser codificada por segmentos de gene redistribuídos de V_HDJ_H, V_LDJ_H, V_HJ_L ou V_LJ_L. Uma proteína TCA usa um anticorpo apenas de cadeia pesada conforme definido acima no presente documento.

[0062] O termo "receptor de antígeno quimérico" ou "CAR" é usado no presente documento no sentido mais amplo para se referir a um receptor modificado geneticamente, que enxerta uma especificidade de ligação desejada (por exemplo, a região de ligação ao antígeno de um anticorpo monoclonal ou outro ligando) e domínios de sinalização intracelular e de espalhamento de membrana. Tipicamente, o receptor é usado para enxertar a especificidade de um anticorpo monoclonal numa célula T para criar um receptor de antígeno quimérico (CAR). (J Natl Cancer Inst, 2015; 108(7):dvj439; e Jackson et al., Nature Reviews Clinical Oncology, 2016; 13:370–383.)

[0063] O termo "anticorpo humano" é usado no presente documento para incluir anticorpos que têm regiões variáveis e constantes

derivadas de sequências de imunoglobulina de linha germinativa humana. Os anticorpos humanos no presente documento podem incluir resíduos de aminoácido não codificados por sequências de imunoglobulina de linha germinativa humana, por exemplo, mutações introduzidas por mutagênese aleatória ou específica de sítio *in vitro* ou por mutação somática *in vivo*. O termo "anticorpo humano" especificamente inclui anticorpos apenas de cadeia pesada que têm sequências de região variável de cadeia pesada humanas, produzidas por animais transgênicos, como ratos transgênicos ou camundongos, em UniAbs™ particulares produzidos por UniRats™, como definido acima.

[0064] Por "anticorpo quimérico" ou "imunoglobulina quimérica" entende-se uma molécula de imunoglobulina compreendendo sequências de aminoácidos de pelo menos dois loci de Ig diferentes, por exemplo, um anticorpo transgênico compreendendo uma porção codificada por um locus de Ig humana e uma porção codificada por um locus de Ig de rato. Os anticorpos quiméricos incluem anticorpos transgênicos com regiões Fc não humanas ou regiões Fc artificiais, e idiotipos humanos. Tais imunoglobulinas podem ser isoladas dos animais da invenção que foram modificados geneticamente para produzir tais anticorpos quiméricos.

[0065] Como usado no presente documento, o termo "célula efetora" se refere a uma célula imune que está envolvida na fase efetora de uma resposta imune, em oposição às fases cognitiva e de ativação de uma resposta imune. Algumas células efetoras expressam receptores de Fc específicos e executam funções imunes específicas. Em algumas modalidades, uma célula efetora como uma célula assassina natural é capaz de induzir citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC). Por exemplo, monócitos e macrófagos, que expressam FcR, são envolvidos em morte específica de células-alvo e apresentação de antígenos a outros componentes do sistema imunológico, ou ligação a

células que apresentam antígenos. Em algumas modalidades, uma célula efetora pode realizar fagocitose de um antígeno-alvo ou célula-alvo.

[0066] "Células efetoras humanas" são leucócitos que expressam receptores como receptores de célula T ou FcRs e realizam funções efetoras. Preferencialmente, as células expressam pelo menos FcγRIII e realizam a função efetora de ADCC. Os exemplos de leucócitos humanos que mediam ADCC incluem células assassinas naturais (NK), monócitos, células T citotóxicas e neutrófilos; com células NK sendo preferenciais. As células efetoras podem ser isoladas a partir de uma fonte nativa das mesmas, por exemplo, de sangue ou PBMCs, conforme descrito no presente documento.

[0067] O termo "célula imune" é usado no presente documento no sentido mais amplo, incluindo, sem limitação, células de origem mieloide ou linfoide, por exemplo, linfócitos (como células B e células T incluindo células T citolíticas (CTLs)), células assassinas, células assassinas naturais (NK), macrófagos, monócitos, eosinófilos, células polimorfonucleares, como neutrófilos, granulócitos, células de masto e basófilos.

[0068] As "funções efetoras" de anticorpo se referem àquelas atividades biológicas atribuíveis à região Fc (uma região Fc de sequência nativa ou região Fc variante de sequência de aminoácidos) de um anticorpo. Os exemplos de funções efetoras de anticorpo incluem a ligação de C1q, a citotoxicidade dependente de complemento; a ligação de receptor de Fc; a citotoxicidade mediata por célula dependente de anticorpo (ADCC); a fagocitose; a regulação descendente de receptores de superfície celular (por exemplo, receptor de célula B; BCR), etc.

[0069] "Citotoxicidade mediada por célula dependente de anticorpo" e "ADCC" se referem a uma reação mediada por células na qual células citotóxicas não específicas que expressam receptores Fc

(FcRs) (por exemplo, células Exterminadoras Naturais (NK), neutrófilos e macrófagos) reconhecem anticorpo ligado numa célula-alvo e subsequentemente causam lise da célula-alvo. As células primárias para mediar ADCC, células NK, expressam FcγRIII apenas, enquanto que monócitos expressam FcγRI, FcγRII e FcγRIII. A expressão de FcR em células hematopoiéticas é sumarizada na Tabela 3 na página 464 de Ravetch e Kinet, *Annu. Rev. Immunol* 9:457-92 (1991). Para avaliar a atividade de ADCC de uma molécula de interesse, pode ser realizado um ensaio ADCC *in vitro*, como aquele descrito na patente US nº 5.500.362 ou 5.821.337. As células efectoras úteis para tais ensaios incluem células mononucleares de sangue periférico (PBMC) e células exterminadoras naturais (NK). Alternativa ou adicionalmente, a atividade de ADCC da molécula de interesse pode ser avaliada *in vivo*, por exemplo, num modelo animal, tal como aquele divulgado em Clynes *et al.* PNAS (USA) 95:652-656 (1998).

[0070] "Citotoxicidade dependente de complemento" ou "CDC" se refere à capacidade de uma molécula para lisar um alvo na presença de complemento. A via de ativação de complemento é iniciada pela ligação do primeiro componente do sistema complemento (C1q) a uma molécula (por exemplo, um anticorpo) complexada com um antígeno cognato. Para avaliar a ativação de complemento, pode ser realizado um ensaio de CDC, por exemplo, conforme descrito em Gazzano-Santoro *et al.*, *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996), pode ser realizado.

[0071] "Afinidade de ligação" se refere, de modo geral, à intensidade do total de soma de interações não covalentes entre um único sítio de ligação de uma molécula (por exemplo, um anticorpo) e seu parceiro de ligação (por exemplo, um antígeno). A não ser que indicado de outro modo, conforme usado no presente documento, "afinidade de ligação" se refere à afinidade de ligação intrínseca que reflete uma

interação a 1:1 entre membros de um par de ligação (por exemplo, anticorpo e antígeno). A afinidade de uma molécula X com seu parceiro Y pode geralmente ser representada pela constante de dissociação (Kd). Afinidade pode ser medida por métodos comuns conhecidos na técnica. Os anticorpos de baixa afinidade geralmente se ligam ao antígeno lentamente e tendem a se dissociar prontamente, enquanto que os anticorpos de alta afinidade geralmente se ligam ao antígeno mais rapidamente e tendem a permanecer ligados.

[0072] Como usado aqui, a "Kd" ou "valor de Kd" se refere a uma constante de dissociação determinada por Interferometria BioLayer, usando um instrumento Octet QK384 (Fortebio Inc., Menlo Park, CA) no modo cinético. Por exemplo, os sensores Fc anticamundongo são carregados com antígeno fundido a Fc de camundongo e, então, mergulhados em poços contendo anticorpos para medir as taxas de associação dependentes de concentração (kon). As taxas de dissociação do anticorpo (koff) são medidas na etapa final, em que os sensores são mergulhados em poços contendo apenas tampão. A Kd é a razão de koff/kon. (Para mais detalhes ver Concepcion, J, et al., Comb Chem High Throughput Screen, 12(8), 791-800, 2009).

[0073] Os termos "tratamento", "tratar" e similares são usados no presente documento para significar, de modo geral, obter um efeito farmacológico e/ou fisiológico desejado. O efeito pode ser profilático em termos de prevenir completa ou parcialmente uma doença ou sintoma da mesma e/ou pode ser terapêutico em termos de cura parcial ou completa para uma doença e/ou efeito adverso atribuível à doença. "Tratamento", como usado no presente documento, abrange qualquer tratamento de uma doença num mamífero e inclui: (a) a prevenção da ocorrência da doença num sujeito que pode estar predisposto à doença, mas ainda não foi diagnosticado como tendo a mesma; (b) inibição da doença, isto é, impedindo seu desenvolvimento; ou (c) alívio da do-

ença, isto é, provocando a regressão da doença. O agente terapêutico pode ser administrado antes, durante ou após o início da doença ou lesão. O tratamento de doença em curso, em que o tratamento estabiliza ou reduz os sistemas clínicos indesejáveis do paciente é de interesse particular. Tal tratamento é desejavelmente realizado antes da perda completa de função nos tecidos afetados. A terapia em questão pode ser administrada durante o estágio sintomático da doença e, em alguns casos, após o estágio sintomático da doença.

[0074] Uma "quantidade terapeuticamente eficaz" se destina a uma quantidade de agente ativo que é necessário para conferir benefício terapêutico para um sujeito. Por exemplo, uma "quantidade terapeuticamente eficaz" é uma quantidade que induz, melhora ou de outro modo causa uma melhoria nos sintomas patológicos, progressão da doença ou condições fisiológicas associadas a uma doença ou que melhora a resistência a um distúrbio.

[0075] Os termos "neoplasmos de célula B" ou "neoplasmos de célula B maduros" no contexto da presente invenção incluem linfoma linfocítico pequeno, linfoma prolimorfocítico de célula B, leucemia linfocítica crônica de célula B, linfoma de célula de manto, linfoma de Burkitt, linfoma folicular, linfoma de célula B grande difusa (DLBCL), mieloma múltiplo, linfoma linfoplasmacítico, linfoma de zona marginal esplênica, neoplasmos de célula de plasma, como mieloma de célula de plasma, plasmacitoma, doença de deposição de imunoglobulina monoclonal, doença de cadeia pesada, linfoma de MALT, linfoma de célula B marginal nodal, linfoma de célula B grande intravascular, linfoma de efusão primária, granulomatose linfomatoide, linfoma não Hodgkins, linfoma de Hodgkins, leucemia de célula capilar, linfoma de efusão primária e linfoma não Hodgkins relacionado à AIDS.

[0076] Os termos "sujeito", "indivíduo" e "paciente" são usados intercambiavelmente no presente documento para se referir a um mamí-

fero que é avaliado acerca do tratamento e/ou que é tratado. Numa modalidade, o mamífero é um ser humano. Os termos "sujeito", "indivíduo" e "paciente" abrangem, sem limitação, indivíduos que têm câncer, indivíduos com doenças autoimunes, com infecções por patógenos e similares. Os sujeitos podem ser humanos, mas também incluem outros mamíferos, particularmente aqueles mamíferos úteis como modelos de laboratório para doenças humanas, por exemplo, camundongo, rato, etc.

[0077] O termo "formulação farmacêutica" se refere a uma preparação que está em tal forma para permitir que a atividade biológica do ingrediente ativo seja eficaz e que não contém nenhum componente adicional que seja inaceitavelmente tóxico a um indivíduo ao qual a formulação seria administrada. Tais formulações são estéreis. Excipientes "farmaceuticamente aceitáveis" (veículos, aditivos) são aqueles que podem ser razoavelmente administrados a um indivíduo mamífero para fornecer uma dose eficaz do ingrediente ativo empregado.

[0078] Uma formulação "estéril" é asséptica ou livre ou essencialmente livre de todos os micro-organismos vivos e seus esporos. Uma formulação "congelada" é uma numa temperatura abaixo de 0°C.

[0079] Uma formulação "estável" é uma na qual a proteína na mesma retém, essencialmente, sua estabilidade física e/ou estabilidade química e/ou atividade biológica mediante armazenamento. Preferencialmente, a formulação retém, essencialmente, sua estabilidade física e química, bem como sua atividade biológica mediante armazenamento. O período de armazenamento é geralmente selecionado com base na vida útil desejada da formulação. Várias técnicas analíticas para medir estabilidade de proteína estão disponíveis na arte e são revisados em Peptide and Protein Drug Delivery, 247-301. Vincent Lee Ed., Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., Pubs. (1991) e Jones. A. Adv. Drug Delivery Rev. 10: 29-90) (1993), por exemplo. Estabilidade

pode ser medida numa temperatura selecionada por um período de tempo selecionado. Estabilidade pode ser avaliada qualitativa e/ou quantitativamente numa variedade de maneiras diferentes, que incluem avaliação de formação de agregado (por exemplo, com o uso de cromatografia de exclusão de tamanho, medindo-se turbidez e/ou através de inspeção visual); avaliando-se heterogeneidade de carga com o uso de cromatografia de troca catiônica, focalização isoelétrica capilar de imagem (icIEF) ou eletroforese de zona capilar; análise de sequência amino-terminal ou carboxi-terminal; análise espectrométrica de massa; análise de SDS-PAGE para comparar anticorpo reduzido e intacto; análise de mapa peptídico (por exemplo, tríptico ou LYS-C); avaliando-se a atividade biológica ou função de ligação ao antígeno do anticorpo; etc. Instabilidade pode envolver qualquer um ou mais dentre: agregação, desamidação (por exemplo, desamidação de Asn), oxidação (por exemplo, oxidação de Met), isomerização (por exemplo, isomerização de Asp), clivagem/hidrólise/fragmentação (por exemplo, fragmentação de região de dobradiça), formação de succinimida, cisteínas não pareadas, extensão de N-terminal, processamento de C-terminal, diferenças de glicosilação, etc.

II. DESCRIÇÃO DETALHADA

ANTICORPOS ANTI-CD22

[0080] A presente invenção fornece uma família de anticorpos apenas de cadeia pesada proximalmente relacionados que se ligam a CD22 humano. Os anticorpos desta família compreendem um conjunto de sequências de CDR, conforme definido no presente documento, e mostrado na Figura 1, e são exemplificados pelas sequências de região variável de cadeia pesada (VH) fornecidas de SEQ ID NOs: 24 a 84 apresentadas na Figura 2. As famílias de anticorpos fornecem vários benefícios que contribuem para utilidade como agente clinicamente terapêutico (ou agentes clinicamente terapêuticos). Os anticorpos in-

cluem membros com uma faixa de afinidades de ligação, permitindo a seleção de uma sequência específica com uma afinidade de ligação desejada.

[0081] Um anticorpo adequado pode ser selecionado a partir daqueles fornecidos no presente documento para desenvolvimento e uso terapêutico ou diferente, incluindo, sem limitação, o uso como um anticorpo biespecífico, por exemplo, conforme mostrado na Figura 5B, ou anticorpo triespecífico, ou parte de uma estrutura CAR-T.

[0082] A determinação da afinidade para uma proteína candidata pode ser realizada usando métodos conhecidos na técnica, como medições Biacore. Os membros da família de anticorpos podem ter uma afinidade para CD22 com uma Kd de cerca de 10^{-6} a cerca de 10^{-11} , incluindo, sem limitação: de cerca de 10^{-6} a cerca de 10^{-10} ; de cerca de 10^{-6} a cerca de 10^{-9} ; de cerca de 10^{-6} a cerca de 10^{-8} ; de cerca de 10^{-8} a cerca de 10^{-11} ; de cerca de 10^{-8} a cerca de 10^{-10} ; de cerca de 10^{-8} a cerca de 10^{-9} ; de cerca de 10^{-9} a cerca de 10^{-11} ; de cerca de 10^{-9} a cerca de 10^{-10} ; ou qualquer valor dentro destas faixas. A seleção de afinidade pode ser confirmada com uma avaliação biológica para modular, por exemplo, o bloqueio, uma atividade biológica de CD22, incluindo ensaios *in vitro*, modelos pré-clínicos e ensaios clínicos, bem como a avaliação de toxicidade potencial.

[0083] Membros da família de anticorpo no presente documento não são reativos de forma cruzada com a proteína de CD22 de macaco *Cynomolgus*, porém, podem ser modificados geneticamente para fornecer reatividade cruzada com a proteína de CD22 de macaco *Cynomolgus*, ou com o CD22 de qualquer outra espécie animal, se for desejado.

[0084] A família de anticorpos específicos de CD22 no presente documento compreende um domínio de VH que compreende sequências de CDR1, CDR2 e CDR3 num framework de VH humano. As se-

quências de CDR podem estar situadas, como um exemplo, na região em torno dos resíduos de aminoácidos 26-35; 53-59; e 98-117 para CDR1, CDR2 e CDR3, respectivamente, das sequências de região variável exemplificativas fornecidas apresentadas na SEQ ID NOs: 24 a 84. Será entendido por um indivíduo de habilidade comum na técnica que as sequências de CDR podem estar em posições diferentes se for selecionada uma sequência de estrutura diferente, embora geralmente a ordem das sequências permaneça a mesma.

[0085] As sequências de CDR1, CDR2 e CDR3 dos anticorpos anti-CD22 da presente invenção podem ser abrangidas pelas seguintes fórmulas estruturais, em que um X indica um aminoácido variável, que pode ser aminoácidos específicos conforme indicado abaixo.

CDR1

G X₁ S I X₂ X₃ X₄ X₅ X₆ Y (SEQ ID NO: 85)

onde X₁ é D ou G;
 X₂ é S, T, I ou N;
 X₃ é S ou D;
 X₄ é G, S ou N;
 X₅ é D, G ou S; e
 X₆ é Y ou H.

CDR2

X₇ X₈ Y X₉ G X₁₀ X₁₁ (SEQ ID NO: 86)

onde X₇ é I ou V;
 X₈ é Y ou H;
 X₉ é S ou T;
 X₁₀ é A, V ou S; e
 X₁₁ é T ou A.

CDR3

X₁₂ R X₁₃ D S S X₁₄ W R S (SEQ ID NO: 87)

onde X₁₂ é T, A ou K;

X_{13} é D ou E; e

X_{14} é N ou S.

[0086] As sequências representativas de CDR1, CDR2 e CDR3 são mostradas na Figura 1 e na Figura 3.

[0087] Em algumas modalidades, um anticorpo apenas de cadeia pesada anti-CD22 da invenção compreende uma sequência de CDR1 de qualquer uma de SEQ ID NOs: 1 a 10. Numa modalidade particular, a sequência de CDR1 é SEQ ID NO: 1.

[0088] Em algumas modalidades, um anticorpo apenas de cadeia pesada anti-CD22 da invenção compreende uma sequência de CDR2 de qualquer uma de SEQ ID NOs: 11 a 17. Numa modalidade particular, a sequência de CDR2 é SEQ ID NO: 11.

[0089] Em algumas modalidades, um anticorpo apenas de cadeia pesada anti-CD22 da invenção compreende uma sequência de CDR3 de qualquer uma de SEQ ID NOs: 18 a 23. Numa modalidade particular, a sequência de CDR2 é SEQ ID NO: 18.

[0090] Numa modalidade adicional, o anticorpo apenas de cadeia pesada anti-CD22 da invenção compreende a sequência de CDR1 de SEQ ID NO:1; a sequência de CDR2 de SEQ ID NO: 11; e a sequência de CDR3 de SEQ ID NO: 18.

[0091] Em modalidades adicionais, um anticorpo apenas de cadeia pesada anti-CD22 da invenção compreende qualquer uma a partir das sequências de aminoácidos de região variável de cadeia pesada de SEQ ID NOs: 24 a 84 (Figura 2).

[0092] Ainda numa modalidade adicional, um anticorpo apenas de cadeia pesada anti-CD22 da presente invenção compreende a sequência de região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 24.

[0093] Em algumas modalidades, uma sequência de CDR num anticorpo apenas de cadeia pesada anti-CD22 da invenção compreende uma ou duas substituições de aminoácidos em relação a uma se-

quência de CDR1, CDR2 e/ou CDR3 ou conjunto de sequências de CDR1, CDR2 e CDR3 em qualquer uma de SEQ ID NOs:1 a 23 (FIG. 1). Em algumas modalidades, a dita substituição (ou substituições) de aminoácido é uma ou duas dentre as posições de aminoácido 4 a 6 de CDR1, e/ou uma ou duas dentre as posições de aminoácido 2, 4 a 7 de CDR2, e/ou uma ou duas posições de aminoácido 5 e 12 de CDR3, com relação às fórmulas fornecidas acima. Em algumas modalidades, os anticorpos apenas de cadeia pesada anti-CD22 no presente documento compreenderão uma sequência de região variável de cadeia pesada com pelo menos cerca de 85% de identidade, pelo menos 90% de identidade, pelo menos 95% de identidade, pelo menos 98% de identidade, ou pelo menos 99% de identidade com qualquer uma das sequências de região variável de cadeia pesada de SEQ ID NOs: 24 a 84 (mostrado na Figura 2).

[0094] Em algumas modalidades, os anticorpos biespecíficos ou multiespecíficos são fornecidos, os quais podem ter qualquer uma das configurações discutidas no presente documento, incluindo, sem limitação, uma molécula do tipo anticorpo de três cadeias biespecífico. Em algumas modalidades, um anticorpo biespecífico pode compreender pelo menos uma região variável de cadeia pesada que tem especificidade de ligação para CD22, e pelo menos uma região variável de cadeia pesada que tem especificidade de ligação para uma proteína diferente de CD22. Em algumas modalidades, um anticorpo biespecífico pode compreender um par de cadeia pesada/cadeia leve que tem especificidade de ligação para um primeiro antígeno, e uma cadeia pesada de um anticorpo apenas de cadeia pesada, que compreende uma porção Fc que compreende domínios de CH2 e/ou CH3 e/ou CH4, na ausência de um domínio de CH1, e um domínio de ligação a antígeno que se liga a um epítipo de um segundo antígeno ou um epítipo diferente do primeiro antígeno. Numa modalidade particular, um

anticorpo biespecífico compreende um par de cadeia pesada/cadeia leve que tem especificidade de ligação para um antígeno numa célula efetora (por exemplo, uma proteína de CD3 numa célula T), e uma cadeia pesada de um anticorpo apenas de cadeia pesada que compreende um domínio de ligação a antígeno que tem especificidade de ligação para CD22.

[0095] Em algumas modalidades, quando uma proteína da invenção é um anticorpo biespecífico, um braço do anticorpo (uma porção química de ligação) é específico para CD22 humano, enquanto o outro braço pode ser específico para células-alvo, antígenos associados a tumor, antígenos-alvo, por exemplo, integrinas, etc., antígenos de patógeno, proteínas de ponto de verificação, e semelhantes. As células-alvo incluem especificamente células de câncer, incluindo, sem limitação, células de tumores hematológicos, por exemplo, tumores de célula B, conforme discutido abaixo.

[0096] Diversos formatos de anticorpos biespecíficos estão dentro do âmbito da invenção, incluindo, sem limitação, polipeptídeos de cadeia única, polipeptídeos de duas cadeias, polipeptídeos de três cadeias, polipeptídeos de quatro cadeias e múltiplos dos mesmos. Os anticorpos biespecíficos no presente documento incluem especificamente anticorpos biespecíficos de célula T que se ligam a CD22, o que é seletivamente expressado em células B maduras, e CD3 (anticorpos anti-CD22 x anti-CD3). Tais anticorpos induzem ao extermínio mediado por célula T potente de células que expressam CD22.

PREPARAÇÃO DE ANTICORPOS DE CADEIA PESADA ANTI-CD22

[0097] Os anticorpos de cadeia pesada da presente invenção podem ser preparados por métodos conhecidos na técnica. Numa modalidade preferencial, os anticorpos de cadeia pesada no presente documento são produzidos por animais transgênicos, incluindo camundongos e ratos transgênicos, preferencialmente ratos, em que os ge-

nes de imunoglobulina endógena são submetidos a *knockout* ou desabilitados. Numa modalidade preferencial, os anticorpos de cadeia pesada no presente documento são produzidos em UniRat™. UniRat™ têm seus genes de imunoglobulina endógena silenciados e usam uma translócus de cadeia pesada de imunoglobulina humana para expressar um repertório diverso naturalmente otimizado de HCAs totalmente humanos. Embora loci de imunoglobulina endógena em ratos possam ser submetidos a *knockout* ou silenciados usando uma variedade de tecnologias, em UniRat™ a tecnologia de (endo)nuclease de dedo de zinco (ZNF) foi usada para a desativar o J-locus de cadeia pesada de rato endógena, locus de Ck de cadeia leve e locus de Cλ de cadeia leve. Os construtos de ZNF para microinjeção em oócitos podem produzir linhagens de *knockout* (KO) de IgH e IgL. Para detalhes consultar, por exemplo, Geurts et al., 2009, Science 325:433. A caracterização de ratos knockout de cadeia pesada de Ig foi relatada por Menoret et al., 2010, Eur. J. Immunol. 40:2932-2941. As vantagens da tecnologia de ZNF são que junção de extremidade não homóloga para silenciar um gene ou locus por meio de deleções até vários kb também pode fornecer um sítio-alvo para integração homóloga (Cui et al., 2011, Nat Biotechnol 29:64-67). Os anticorpos humanos de cadeia pesada produzidos em UniRat™ são chamados de UniAbs™ e podem ligar epitopos que não podem ser atacados com anticorpos convencionais. Sua alta especificidade, afinidade e tamanho pequeno os torna ideais para aplicações monoespecíficas e poliespecíficas.

[0098] Além dos UniAbs™, são especificamente incluídos no presente documento anticorpos apenas de cadeia pesada desprovidos do framework e mutações de VHH de camélídeo, e suas regiões de VH funcionais. Tais anticorpos apenas de cadeia pesada, por exemplo, podem ser produzidos em ratos transgênicos ou camundongos que compreendem loci de gene apenas de cadeia pesada totalmente hu-

manos como descrito, por exemplo, no documento nº WO2006/008548, mas outros mamíferos transgênicos, como coelho, cobaia, rato também podem ser usados, ratos e camundongos sendo preferenciais. Os anticorpos apenas de cadeia pesada, incluindo seus fragmentos funcionais de VHH ou VH, também podem ser produzidos por tecnologia de DNA recombinante, por expressão do ácido nucleico de codificação num hospedeiro eucariótico ou procariótico adequado, incluindo, por exemplo, células de mamífero (por exemplo, células CHO), E. coli ou levedura.

[0099] Os domínios de anticorpos apenas de cadeia pesada combinam vantagens de anticorpos e fármacos de molécula pequena: podem ser monovalentes ou multivalentes; têm toxicidade baixa; e são econômicos para fabricar. Devido ao seu tamanho pequeno, estes domínios são fáceis para administrar, incluindo administração oral ou tópica, são caracterizados por alta estabilidade, incluindo estabilidade gastrointestinal; e sua meia vida pode ser adaptada ao uso desejado ou indicação. Além disto, domínios de VH e VHH de HCAs podem ser fabricados de uma forma econômica.

[00100] Numa modalidade particular, os anticorpos de cadeia pesada da presente invenção, incluindo UniAbs™, têm o resíduo de aminoácido nativo na primeira posição da região de FR4 (aminoácido posição 101 de acordo com o sistema de numeração Kabat), substituído por outro resíduo de aminoácido, que é capaz de perturbar um emplastro hidrofóbico exposto à superfície compreendendo ou associado ao resíduo de aminoácido nativo em tal posição. Tais emplastros hidrofóbicos são normalmente enterrados na interface com a região constante de cadeia leve de anticorpo, porém, se tornam expostos à superfície em HCAs e são, pelo menos parcialmente, para a agregação indesejada e associação de cadeia leve de HCAs. O resíduo de aminoácido substituído preferencialmente é carregado, e mais prefe-

rencialmente, é positivamente carregado, como lisina (Lys, K), arginina (Arg, R) ou histidina (His, H), preferencialmente arginina (R). Numa modalidade preferencial, os anticorpos apenas de cadeia pesada derivados dos animais transgênicos contêm uma mutação de Trp para Arg na posição 101. Os HCAbs resultantes preferencialmente têm alta afinidade de ligação a antígeno e solubilidade sob condições fisiológicas na ausência de agregação.

[00101] Como parte da presente invenção, os anticorpos de cadeia pesada anti-CD22 de IgG humana com sequências únicas de animais UniRat™ (UniAb™) foram identificados ligando-se a CD22 humano em ensaios de ligação de célula de proteína ELISA (domínio extracelular CD22 recombinante). As sequências de região variável de cadeia pesada (VH) identificadas (consultar a Figura 2) são positivas para proteína de CD22 humana que se liga e/ou para ligação a células CD22+, e são todas negativas para ligação a células que não expressam CD22.

[00102] Os anticorpos descritos no presente documento se ligam à linhagem celular Duadi de linfoma de Burkitt positivo para CD22 (ATCC® CCL-213™), e alguns são reativos de modo cruzado com a proteína de CD22 de macaco *Cynomolgus*. Além disto, os mesmos podem ser geneticamente modificados para fornecer a reatividade cruzada com a proteína de CD22 de qualquer espécie animal, se for desejado.

[00103] Os anticorpos de cadeia pesada anti-CD22, como UniAbs™ no presente documento podem ter uma afinidade para CD22 com uma Kd de cerca de 10^{-6} a cerca de 10^{-11} , incluindo, sem limitação: de cerca de 10^{-6} a cerca de 10^{-10} ; de cerca de 10^{-6} a cerca de 10^{-9} ; de cerca de 10^{-6} a cerca de 10^{-8} ; de cerca de 10^{-8} a cerca de 10^{-11} ; de cerca de 10^{-8} a cerca de 10^{-10} ; de cerca de 10^{-8} a cerca de 10^{-9} ; de cerca de 10^{-9} a cerca de 10^{-11} ; de cerca de 10^{-9} a cerca de 10^{-10} ; ou qualquer valor dentro destas faixas. A seleção de afinidade pode ser confirmada com

uma avaliação biológica para modular, por exemplo, o bloqueio, uma atividade biológica de CD22, incluindo ensaios *in vitro*, modelos pré-clínicos e ensaios clínicos, bem como a avaliação de toxicidade potencial.

[00104] Os anticorpos de cadeia pesada que se ligam a epitopos sem sobreposição numa proteína de CD22, por exemplo, UniAbs™, podem ser identificados por ensaios de ligação por competição, como imunoenaios de ligação de enzima (ensaios ELISA) ou ensaios de ligação competitiva citométrica de fluxo. Por exemplo, é possível usar a competição entre anticorpos conhecidos que se ligam ao antígeno-alvo e o anticorpo de interesse. Com o uso desta abordagem, é possível dividir um conjunto de anticorpos naqueles que competem com o anticorpo de referência e aqueles que não o fazem. Os anticorpos não competitivos são identificados como de ligação a um epitopo distinto que não se sobrepõe ao epitopo ligado pelo anticorpo de referência. Frequentemente, um anticorpo é imobilizado, o antígeno é ligado e um segundo anticorpo, identificado (por exemplo, biotilado), é testado num ensaio ELISA quanto à capacidade de ligação ao antígeno capturado. Isto pode ser realizado, ainda, com o uso de plataformas de ressonância plasmônica de superfície (SPR), incluindo ProteOn XPR36 (BioRad, Inc), Biacore 2000 e Biacore T200 (GE Healthcare Life Sciences), e imageador MX96 SPR (Ibis tecnologias B.V.), assim como em plataformas de interferometria de biocamada, como Octet Red384 e Octet HTX (ForteBio, Pall Inc). Para detalhes adicionais, consultar os exemplos no presente documento.

[00105] Tipicamente, um anticorpo "compete" com um anticorpo de referência se causar cerca de 15 a 100% de redução na ligação do anticorpo de referência ao antígeno-alvo, como determinado por técnicas padrão, como pelos ensaios de ligação por competição descritos acima. Em várias modalidades, a inibição relativa é pelo menos cerca

de 15%, pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 25%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 35%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 45%, pelo menos cerca de 50% pelo menos cerca de 55%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 65%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 75%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 95% ou mais.

COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS, USOS E MÉTODOS DE TRATAMENTO

[00106] É outro aspecto da presente invenção fornecer composições farmacêuticas que compreendem um ou mais anticorpos da presente invenção em mistura por adição com um carreador farmacêuticamente aceitável adequado. Os carreadores farmacêuticamente aceitáveis, como usado no presente documento, são exemplificados, mas não limitados a adjuvantes, carreadores sólidos, água, tampões ou outros carreadores usados na técnica para reter componentes terapêuticos, ou combinações dos mesmos.

[00107] Numa modalidade, uma composição farmacêutica compreende um anticorpo de cadeia pesada (por exemplo, UniAb™) que se liga a CD22. Em outra modalidade, uma composição farmacêutica compreende um anticorpo de cadeia pesada (por exemplo, UniAb™) multiespecífico (incluindo biespecífico) com especificidade de ligação por dois ou mais epitopos sem sobreposição numa proteína de CD22. Numa modalidade preferencial, uma composição farmacêutica compreende um anticorpo de cadeia pesada (por exemplo, UniAb™) multiespecífico (incluindo biespecífico) com especificidade de ligação a CD22 e com especificidade de ligação a um alvo de ligação numa célula efetora (por exemplo, um alvo de ligação numa célula T, como, por exemplo, uma proteína CD3 numa célula T).

[00108] A composição farmacêutica dos anticorpos usados de

acordo com a presente invenção é preparada para armazenamento mediante a mistura de proteínas que têm o grau de pureza desejado com carreadores, excipientes ou estabilizantes farmacologicamente aceitáveis opcionais (ver, por exemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences 16ª edição, Osol, A. Ed. (1980)), como sob a forma de formulações liofilizadas ou soluções aquosas. Os carreadores, excipientes ou estabilizantes aceitáveis são não tóxicos aos recebedores nas dosagens e concentrações empregadas, e incluem tampões, como fosfato, citrato e outros ácidos orgânicos; antioxidantes, incluindo ácido ascórbico e metionina; conservantes (como cloreto de octadecildimetilbenzil amônio; cloreto de hexametônio; cloreto de benzalcônio, cloreto de benzetônio; fenol, álcool butílico ou benzílico; alquil parabenos, como metil ou propil parabeno; catecol; resorcinol; ciclo-hexanol; 3-pentanol; e m-cresol); polipeptídeos de baixo peso molecular (menos que cerca de 10 resíduos); proteínas, como albumina sérica, gelatina ou imunoglobulinas; polímeros hidrofílicos, como polivinilpirrolidona; aminoácidos, como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina ou lisina; monossacarídeos, dissacarídeos e outros carboidratos, incluindo glicose, manose ou dextrinas; agentes quelantes, como EDTA; açúcares, como sacarose, manitol, trealose ou sorbitol; contraíons formadores de sal, como sódio; complexos de metal (por exemplo, complexos de Zn-proteína); e/ou tensoativos não iônicos, como TWEEN™, PLURONICS™ ou polietileno glicol (PEG).

[00109] Composições farmacêuticas para administração parenteral são preferencialmente estéreis e substancialmente isotônicas e fabricadas sob as condições de Boa Prática de Fabricação (GMP). Composições farmacêuticas podem ser fornecidas em forma de dosagem unitária (isto é, a dosagem para uma única administração). A formulação depende da rota de administração escolhida. Os anticorpos no presente documento podem ser administrados através de injeção in-

travenosa ou infusão ou por via subcutânea. Para administração por injeção, os anticorpos no presente documento podem ser formulados em soluções aquosas, preferencialmente em tampões fisiologicamente compatíveis para reduzir o desconforto no sítio de injeção. A solução pode conter carreadores, excipientes ou estabilizadores, conforme abordado acima. Alternativamente, anticorpos podem estar em forma liofilizada para constituição com um veículo adequado, por exemplo, água isenta de pirógeno estéril, antes do uso.

[00110] As formulações de anticorpo são divulgadas, por exemplo, na Patente nº U.S. 9.034.324. Formulações similares podem ser usadas para os anticorpos de cadeia pesada, incluindo UniAbs™, da presente invenção. As formulações de anticorpo subcutâneas são descritas, por exemplo, nos documentos nº US20160355591 e US20160166689.

MÉTODOS DE USO

[00111] Os anticorpos anti-CD22 apenas de cadeia pesada, anticorpos multiespecíficos e composições farmacêuticas descritas no presente documento podem ser usados para o tratamento de doenças e afecções caracterizadas pela expressão de CD22, incluindo, sem limitação, as afecções e doenças adicionalmente descritas no presente documento. Aspectos da invenção também se referem a usos de um anticorpo descrito no presente documento, na preparação de um medicamento para o tratamento de um distúrbio de célula B caracterizado pela expressão de CD22. Aspectos da invenção também se referem a um anticorpo descrito no presente documento para uso no tratamento de um distúrbio de célula B caracterizado pela expressão de CD22.

[00112] CD22 é uma proteína transmembranar de tipo I de 135 kDa que é expressada em baixos níveis em pré-células B e células B imaturas, de modo máximo em células B maduras, e, finalmente, regulada de modo decrescente em células de plasma. (Por exemplo, Walker et

al., *Immunology*, Mar 2008; 123(3) 314 a 325). CD22 é fortemente expressado em células B foliculares (zonas de célula B primária e secundária), de manto e de zona marginal, e foi relatado como presente em 60% a 80% de amostras de pacientes com malignidades de célula B (Alderson et al., *Clin. Cancer Res* 2009;15(3) 11 de fevereiro de 2009). Devido a esta expressão observada em várias malignidades hematológicas, CD22 é um alvo promissor para produtos terapêuticos à base de anticorpo.

[00113] Num aspecto, os anticorpos de cadeia pesada CD22 (por exemplo, UniAbs™) e composições farmacêuticas no presente documento podem ser usados para tratar malignidades hematológicas caracterizadas pela expressão de CD22, incluindo, sem limitação, linfoma de célula B grande difusa (DLBCL), linfoma não Hodgkin, leucemia linfocítica crônica de célula B (CLL), e leucemia linfoblástica aguda de célula B (ALL).

[00114] Linfoma de célula B grande difusa (DLBCL ou DLBL) é a forma mais comum de linfoma não Hodgkin entre adultos (*Blood* 1997 89 (11): 3909-3918), com uma incidência anual estimada de 7 a 8 casos por 100000 pessoas por ano nos E.U.A. e no Reino Unido. O mesmo é caracterizado como um câncer agressivo que pode surgir em virtualmente qualquer parte do corpo. As causas de DLBCL não são bem entendidas, e podem surgir de células B normais assim como transformação maligna de outros tipos de células de linfoma ou leucemia. As abordagens de tratamento envolvem geralmente quimioterapia e radiação, e resultaram numa média de taxa de sobrevivência de cinco anos geral de aproximadamente 58% para adultos. Embora alguns anticorpos monoclonais tenham se demonstrado promissores para tratar DLBCL, a eficácia clínica consistente ainda não foi conclusivamente demonstrada. Há, portanto, uma grande necessidade por novas terapias, incluindo imunoterapias, para DLBCL.

[00115] Em outro aspecto, os anticorpos de cadeia pesada de CD22 (por exemplo, UniAbs™) e composições farmacêuticas no presente documento podem ser usados para tratar distúrbios autoimunes caracterizados por células B patogênicas que expressam CD22, incluindo, sem limitação, lúpus eritematoso sistêmico (SLE), artrite reumatoide (RA), e esclerose múltipla (MS).

[00116] As doses eficazes das composições da presente invenção para o tratamento da doença variam dependendo de muitos fatores diferentes que incluem meios de administração, local alvo, estado fisiológico do paciente, se o paciente é humano ou um animal, outros medicamentos administrados, e se o tratamento é profilático ou terapêutico. Normalmente, o paciente é um ser humano, mas os mamíferos não humanos também podem ser tratados, por exemplo, animais de estimação como cães, gatos, cavalos, etc., mamíferos de laboratório como coelhos, camundongos, ratos, etc. e similares. As dosagens de tratamento podem ser tituladas para otimizar a segurança e a eficácia.

[00117] Os níveis de dosagem podem ser prontamente determinados pelo médico normalmente qualificado e podem ser modificados conforme necessário, por exemplo, conforme necessário para modificar a resposta de um sujeito à terapia. A quantidade de ingrediente ativo que pode ser combinada com os materiais carreadores para produzir uma forma de dosagem única varia dependendo do hospedeiro tratado e do modo específico de administração. As formas unitárias de dosagem geralmente contêm entre cerca de 1 mg a cerca de 500 mg de um ingrediente ativo.

[00118] Em algumas modalidades, a dosagem terapêutica do agente pode se situar na faixa de cerca de 0,0001 a 100 mg/kg, e mais normalmente, 0,01 a 5 mg/kg, do peso corporal do hospedeiro. Por exemplo, as dosagens podem ser de 1 mg/kg de peso corporal ou de 10 mg/kg de peso corporal ou dentro da faixa de 1 a 10 mg/kg. Um re-

gime de tratamento exemplificativo implica administração uma vez a cada duas semanas ou uma vez por mês ou uma vez a cada 3 a 6 meses. As entidades terapêuticas da presente invenção são normalmente administradas em múltiplas ocasiões. Os intervalos entre as dosagens únicas podem ser semanais, mensais ou anuais. Os intervalos também podem ser irregulares, conforme indicado pela medição de níveis sanguíneos da entidade terapêutica no paciente. Alternativamente, as entidades terapêuticas da presente invenção podem ser administradas como uma formulação de liberação prolongada, em cujo caso é necessária uma administração menos frequente. A dosagem e frequência variam dependendo da meia-vida do polipeptídeo no paciente.

[00119] Tipicamente, as composições são preparadas como injetáveis, como soluções ou suspensões líquidas; formas sólidas adequadas para a solução em, ou suspensão em veículos líquidos antes da injeção também podem ser preparadas. As composições farmacêuticas no presente documento são adequadas para administração intravenosa ou subcutânea, diretamente ou após reconstituição de composições sólidas (por exemplo, liofilizadas). A preparação também ser emulsionada ou encapsulada em lipossomas ou micropartículas, como polilactídeo, poliglicolídeo ou copolímero para um efeito adjuvante melhorado, conforme discutido acima. Langer, *Science* 249: 1527, 1990 e Hanes, *Advanced Drug Delivery Reviews* 28: 97-119, 1997. Os agentes desta invenção podem ser administrados na forma de uma injeção de depósito ou preparação de implante que pode ser formulada de modo que permita uma liberação sustentada ou pulsátil do ingrediente ativo. As composições farmacêuticas são geralmente formuladas como estéreis, substancialmente isotônicas e em total conformidade com todos os regulamentos das Boas Práticas de Fabricação (GMP) da Administração de Alimentos e Drogas dos Estados Unidos.

[00120] A toxicidade dos anticorpos e estruturas de anticorpo aqui descritas pode ser determinada por procedimentos farmacêuticos padrão em culturas celulares ou animais experimentais, por exemplo, mediante a determinação da LD50 (a dose letal para 50% da população) ou da LD100 (a dose letal para 100% da população). A razão de dose entre efeito tóxico e terapêutico é o índice terapêutico. Os dados obtidos a partir destes ensaios de cultura celular e estudos em animais podem ser usados na formulação de uma faixa de dosagem que é não tóxica para uso em seres humanos. A dosagem dos anticorpos descritos no presente documento se situa, de preferência, dentro de uma faixa de concentrações circulantes que incluem a dose eficaz com pouca ou nenhuma toxicidade. A dosagem pode variar dentro desta faixa, dependendo da forma de dosagem empregada e da via de administração usada. A formulação, via de administração e dosagem exata podem ser escolhidas pelo médico individual, tendo em vista a condição do paciente.

[00121] As composições para administração irão compreender comumente um anticorpo ou outro agente ablativo dissolvido num carreador farmacologicamente aceitável, de preferência, um carreador aquoso. Uma variedade de carreadores aquosos pode ser usada, por exemplo, solução salina tamponada e similares. Estas soluções são estéreis e geralmente livres de matéria indesejável. Estas composições podem ser esterilizadas por técnicas de esterilização convencionais bem conhecidas. As composições podem conter substâncias auxiliares farmacologicamente aceitáveis, conforme necessário, para aproximar condições fisiológicas como agentes tamponantes e de ajuste do pH, agentes de ajuste de toxicidade e similares, por exemplo, acetato de sódio, cloreto de sódio, cloreto de potássio, cloreto de cálcio, lactato de sódio e similares. A concentração de agente ativo nestas formulações pode variar amplamente e será selecionada prin-

principalmente com base em volumes de fluido, viscosidades, peso corporal e similares de acordo com o modo particular de administração selecionado e as necessidades do paciente (por exemplo, Remington's Pharmaceutical Science (15ª edição, 1980) e Goodman & Gillman, The Pharmacological Basis of Therapeutics (Hardman et al., eds., 1996)).

[00122] Também abrangidos pelo escopo da invenção são os kits compreendendo os agentes ativos e formulações dos mesmos, da invenção e instruções para uso. O kit pode ainda conter pelo menos um reagente adicional, por exemplo, um fármaco quimioterapêutico, etc. Os kits incluem tipicamente um rótulo que indica o uso pretendido do conteúdo do kit. O termo "rótulo", conforme usado no presente documento, inclui qualquer material escrito ou gravado fornecido no ou com um kit ou que, de outra forma, acompanha um kit.

[00123] A invenção agora sendo completamente descrita, ficará evidente para um versado na técnica que várias alterações e modificações podem ser feitas sem se afastar do espírito ou escopo da invenção.

EXEMPLOS

MATERIAIS E MÉTODOS

LIGAÇÃO DE PROTEÍNA DE CD22

[00124] Os experimentos cinéticos para determinar as afinidades antígeno-anticorpo foram realizados no sistema Octet QK-384 (Forte-Bio) com o uso de interferometria de biocamada. Biossensores de Captura de Fc de IgG anti-humana (AHC) (Forte Bio, nº de Parte: 18-5064) foram hidratados em tampão de ensaio (1x PBS, 0,1% BSA, 0,02% de Tween-20, pH 7,2) e pré-condicionados em 100 mM de Glicina, pH 1,5. Uma linha de base foi estabelecida no tampão de ensaio por 120 segundos. Os biossensores de AHC foram, então, imobilizados com UniAbs™ a uma concentração de 5 µg/ml por 120 segundos. Outra linha de base (120 segundos) foi estabelecida no tampão de en-

saio. Em seguida, os mesmos foram, então, imersos numa série de diluição de 1:2 de 7 pontos da proteína de CD22 humana no tampão de ensaio, a partir de 250 nM. O último poço da coluna de analito continha apenas tampão de ensaio para testar quanto à ligação não específica entre o tampão e os biossensores carregados, e foi usado como um poço de referência. A associação foi observada por 600 segundos, seguida pela dissociação por 900 segundos. A análise de dados foi realizada com o uso de Octet Data Analysis v9.0 (ForteBio). A cinética de ligação foi analisada com o uso de um modelo de ligação de 1:1 padrão.

LIGAÇÃO DE CÉLULA DE CD22

[00125] A ligação às células positivas para CD22 foi avaliada por citometria de fluxo (Guava easiCyte 8HT, EMD Millipore) usando a linhagem celular Daudi (ATCC). Brevemente, 100000 células-alvo foram manchadas com uma série de diluição de UniAbs™ purificados por 30 minutos a 4°C. Após a incubação, as células foram lavadas duas vezes com tampão de citometria de fluxo (1X PBS, 1% BSA, 0,1% de NaN₃) e manchadas com IgG anti-humana de F(ab')₂ de cabra conjugada a R-ficoeritrina (PE) (Southern Biotech, nº de cat. 2042-09) para detectar anticorpos ligados a célula. Após uma incubação de 20 minutos a 4°C, as células foram lavadas duas vezes com tampão de citometria de fluxo e, então, a intensidade de fluorescência média (MFI) foi medida por citometria de fluxo. Os valores de EC50 foram calculados usando GraphPad Prism 7. A ligação às células positivas para CD22 cinomolgo foi determinada usando o mesmo protocolo com as seguintes modificações: as células-alvo foram de células CHO estavelmente transfectadas para expressar o domínio extracelular de CD22 cinomolgo e cada anticorpo foi testado a uma única concentração (~1,7 µg/ml) de modo que os valores de EC50 não tenham sido calculados.

EXEMPLO 1: RATOS GENETICAMENTE MODIFICADOS QUE EXPRESSAM ANTICORPOS APENAS DE CADEIA PESADA

[00126] Um locus de IgH 'humana-rato' foi construído e montado em várias partes. Isto envolveu a modificação e junção de genes de região C de rato a jusante de J_{Hs} humano e subsequentemente, a adição a montante da região de segmento de V_{H6} –D-humano. Dois BACs com agrupamentos separados de genes de V_H humanos [BAC6 e BAC3] foram, então, coinjetados com o BAC denominado Georg, codificando a região montada e modificada compreendendo V_{H6} humano, todos os Ds, todos J_{Hs} e $C\alpha/1/2b$ ($\otimes C_H1$) de rato modificado.

[00127] Foram gerados ratos transgênicos que carregam loci de imunoglobulina de cadeia pesada artificial em configuração não rearranjada. Os genes $IgG2a(\Delta C_H1)$., $IgG1(\Delta C_H1)$., $IgG2b(\Delta C_H1)$ genes eram desprovidos do segmento C_H1 . Os genes de região constante IgE , IgA e intensificador 3' foram incluídos em Georg BAC. RT-PCR e análise de soro (ELISA) de ratos transgênicos revelaram rearranjo produtivo de loci de imunoglobulina transgênica e expressão de anticorpos apenas de cadeia pesada de vários isotipos em soro. Os ratos transgênicos foram cruzados com ratos com loci de cadeia pesada e cadeia leve endógenos mutados anteriormente descritos na publicação de patente US 2009/0098134 A1. A análise de tais animais demonstrou inativação da expressão de cadeia pesada e leve de imunoglobulina de rato e expressão de nível alto de anticorpos de cadeia pesada com regiões variáveis codificadas pelos genes V, D e J humanos. A imunização de ratos transgênicos resultou na produção de respostas sérias de alta titulação de anticorpos de cadeia pesada específicos de antígeno. Estes ratos transgênicos que expressam anticorpos de cadeia pesada com uma região VDJ humana foram denominados de UniRats™.

EXEMPLO 2: IMUNIZAÇÃO

IMUNIZAÇÃO COM DOMÍNIO EXTRACELULAR RECOMBINANTE DE CD22.

[00128] Doze animais de UniRat (6 HC27, 6 HC28) foram imunizados com proteína de CD22 humano recombinante. Os animais foram imunizados de acordo com o protocolo padrão usando um adjuvante Titermax/Alhydrogel. O domínio extracelular recombinante de CD22 foi adquirido junto à R&D Systems e foi diluído com solução salina esterilizada e combinado com adjuvante. O imunógeno foi combinado com adjuvantes Titermax e Alhydrogel. A primeira imunização (priming) com imunógeno em Titermax foi administrada nas pernas esquerda e direita. As imunizações de reforço subsequentes foram feitas na presença de Alhydrogel e três dias antes da coleta foram realizados reforços com imunógenos em PBS. O soro foi coletado de ratos no sangramento final para determinar os títulos de soro.

RESULTADOS DE TÍTULO DE SORO

[00129] As informações de sumário de título de soro são mostradas na Figura 6. Nos gráficos representados na Figura 6, cada linha representa um animal individual. As legendas dos gráficos mostram o número de ID de cada animal individual. A atividade de ligação para uma série de diluição de 8 pontos de soro foi testada por ELISA contra uma proteína huCD22+Fc, etiqueta huCD22+His, proteína de etiqueta CD22 rhesus+His e uma proteína fora de alvo de etiqueta His. Dentre este grupo de animais, uma faixa de níveis de reatividade de soro tanto para a proteína de CD22 humana quanto de rhesus foi observada. Uma resposta de soro à etiqueta de proteína His também foi observada.

EXEMPLO 3: LIGAÇÃO A LINHAGENS CELULARES QUE EXPRESSAM CD22

[00130] A Figura 4 resume a atividade de ligação a alvo dos anticorpos apenas de cadeia pesada anti-CD22 descritos no presente do-

cumento. A coluna 1 indica o número de ID de clone do anticorpo apenas de cadeia pesada anti-CD22. A coluna 2 indica a afinidade de ligação à proteína (KD) medida em molaridade. A coluna 3 indica a constante de dissociação de ligação à proteína (taxa K-off) medida em segundos. A coluna 4 indica a ligação a células Daudi medida como vezes sobre sinal de MFI de fundo. A coluna 5 indica a ligação a células CHO que expressam de modo estável CD22 cyno medida como vezes sobre sinal de MFI de fundo. A coluna 6 indica a ligação a células CHO que não expressam proteína CD22 medida como vezes sobre sinal de MFI de fundo.

EXEMPLO 4: EXTERMÍNIO MEDIADO POR ANTICORPO BIESPECÍFICO DE CÉLULAS DE TUMOR HUMANO ATRAVÉS DE REDIRECIONAMENTO DE CÉLULAS T ATIVADAS

[00131] Três linhagens celulares de tumor de linfoma de Burkitt positiva para CD22 diferentes (Daudi, Raji e Ramos) foram rotuladas com corante e incubadas com quantidades crescentes de anticorpo biespecífico na presença de células T humanas pré-ativadas. O anticorpo biespecífico foi composto de um braço de ligação anti-CD3 pareado com o domínio de ligação de VH anti-CD22, conforme representado esquematicamente na Figura 5D. O anticorpo de controle negativo incluiu um domínio de ligação de VH que não se ligou a CD22. As células K562 negativas para CD22 não exibiram lise específica (dados não mostrados). Os dados de três anticorpos biespecíficos que incorporam três domínios de ligação apenas de cadeia pesada anti-CD22 diferentes pareados com o mesmo domínio de ligação anti-CD3 são mostrados na Figura 5A, em comparação com um controle negativo, e demonstram extermínio mediado por anticorpo de células de tumor Daudi positivas para CD22 através de redirecionamento de células T ativadas. Os dados de dois anticorpos biespecíficos que incorporam o mesmo domínio de ligação apenas de cadeia pesada anti-CD22 pare-

ado com dois domínios de ligação anti-CD3 diferentes são mostrados na Figura 5B, em comparação com um controle negativo, e demonstram extermínio mediado por anticorpo de células de tumor Raji positivas para CD22 através de redirecionamento de células T ativadas. Os dados de dois anticorpos biespecíficos que incorporam o mesmo domínio de ligação apenas de cadeia pesada anti-CD22 pareado com dois domínios de ligação anti-CD3 diferentes são mostrados na Figura 5C, em comparação com um controle negativo, e demonstram extermínio mediado por anticorpo de células de tumor Ramos positivas para CD22 através de redirecionamento de células T ativadas.

[00132] Embora modalidades preferenciais da presente invenção tenham sido mostradas e descritas no presente documento, será óbvio para aqueles versados na técnica que tais modalidades são fornecidas a título de exemplo apenas. Diversas variações, alterações e substituições ocorrerão agora para aqueles versados na técnica sem que se afaste da invenção. Deve-se entender que várias alternativas às modalidades da invenção descritas neste documento podem ser empregadas na prática da invenção. Pretende-se que as seguintes reivindicações definam o escopo da invenção e que métodos e estruturas inseridos do escopo destas reivindicações e seus equivalentes estejam cobertos deste modo.

REIVINDICAÇÕES

1. Anticorpo apenas de cadeia pesada que se liga a CD22, caracterizado pelo fato de que compreende uma região variável de cadeia pesada que compreende:

(a) uma CDR1 que tem duas ou menos substituições em qualquer uma das sequências de aminoácidos de SEQ ID NOs: 1 a 10; e/ou

(b) uma CDR2 que tem duas ou menos substituições em qualquer uma das sequências de aminoácidos de SEQ ID NOs: 11 a 17; e/ou

(c) uma CDR3 que tem duas ou menos substituições em qualquer uma das sequências de aminoácidos de SEQ ID NOs: 18 a 23.

2. Anticorpo apenas de cadeia pesada, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que as ditas sequências de CDR1, CDR2 e CDR3 estão presentes em um framework humano.

3. Anticorpo apenas de cadeia pesada, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que compreende adicionalmente uma sequência de região constante de cadeia pesada na ausência de uma sequência de CH1.

4. Anticorpo apenas de cadeia pesada, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo fato de que compreende:

(a) uma sequência de CDR1 selecionada a partir do grupo consistindo em SEQ ID NOs: 1 a 10; e/ou

(b) uma sequência de CDR2 selecionada a partir do grupo consistindo em SEQ ID NOs: 11 a 17; e/ou

(c) uma sequência de CDR3 selecionada a partir do grupo consistindo em SEQ ID NOs: 18 a 23.

5. Anticorpo apenas de cadeia pesada, de acordo com a

reivindicação 4, caracterizado pelo fato de que compreende:

(a) uma sequência de CDR1 selecionada a partir do grupo consistindo em SEQ ID NOs: 1 a 10; e

(b) uma sequência de CDR2 selecionada a partir do grupo consistindo em SEQ ID NOs: 11 a 17; e

(c) uma sequência de CDR3 selecionada a partir do grupo consistindo em SEQ ID NOs: 18 a 23.

6. Anticorpo apenas de cadeia pesada, de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo fato de que compreende:

(a) uma sequência de CDR1 de SEQ ID NO: 1, uma sequência de CDR2 de SEQ ID NO: 11 e uma sequência de CDR3 de SEQ ID NO: 18; ou

(b) uma sequência de CDR1 de SEQ ID NO: 1, uma sequência de CDR2 de SEQ ID NO: 12 e uma sequência de CDR3 de SEQ ID NO: 19; ou

(c) uma sequência de CDR1 de SEQ ID NO: 1, uma sequência de CDR2 de SEQ ID NO: 12 e uma sequência de CDR3 de SEQ ID NO: 20.

7. Anticorpo apenas de cadeia pesada, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo fato de que compreende uma região variável de cadeia pesada que tem pelo menos 95% de identidade de sequência com qualquer uma das sequências de SEQ ID NOs: 24 a 84.

8. Anticorpo apenas de cadeia pesada, de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo fato de que compreende uma sequência de região variável de cadeia pesada selecionada a partir do grupo consistindo em SEQ ID NOs: 24 a 84.

9. Anticorpo apenas de cadeia pesada, de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que compreende uma sequência de região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 24.

10. Anticorpo apenas de cadeia pesada que se liga a CD22, caracterizado pelo fato de que compreende uma região variável de cadeia pesada que compreende uma cadeia pesada variável compreendendo

(a) uma sequência de CDR1 da fórmula:

G X₁ S I X₂ X₃ X₄ X₅ X₆ Y (SEQ ID NO: 85)

onde X₁ é D ou G;
 X₂ é S, T, I ou N;
 X₃ é S ou D;
 X₄ é G, S ou N;
 X₅ é D, G ou S; e
 X₆ é Y ou H; e

(b) uma sequência de CDR2 da fórmula:

X₇ X₈ Y X₉ G X₁₀ X₁₁ (SEQ ID NO: 86)

onde X₇ é I ou V;
 X₈ é Y ou H;
 X₉ é S ou T;
 X₁₀ é A, V ou S; e
 X₁₁ é T ou A; e

(c) uma sequência de CDR3 da fórmula:

X₁₂ R X₁₃ D S S X₁₄ W R S (SEQ ID NO: 87)

onde X₁₂ é T, A ou K;
 X₁₃ é D ou E; e
 X₁₄ é N ou S.

11. Anticorpo apenas de cadeia pesada que se liga a CD22, caracterizado pelo fato de que compreende uma região variável de cadeia pesada que compreende sequências de CDR1, CDR2 e CDR3 em um framework de VH humano, em que as sequências de CDR são uma sequência que têm duas ou menos substituições numa sequência de CDR selecionada a partir do grupo consistindo em SEQ ID NOs:1 a

23.

12. Anticorpo apenas de cadeia pesada, de acordo com a reivindicação 11, caracterizado pelo fato de que compreende uma região variável de cadeia pesada que compreende sequências de CDR1, CDR2 e CDR3 num framework de VH humano, em que as sequências de CDR são selecionadas a partir do grupo consistindo em SEQ ID NOs: 1 a 23.

13. Anticorpo apenas de cadeia pesada que se ligam a CD22, caracterizado pelo fato de que compreende uma região variável de cadeia pesada compreendendo:

(a) uma sequência de CDR1 de SEQ ID NO: 1, uma sequência de CDR2 de SEQ ID NO: 11 e uma sequência de CDR3 de SEQ ID NO: 18; ou

(b) uma sequência de CDR1 de SEQ ID NO: 1, uma sequência de CDR2 de SEQ ID NO: 12 e uma sequência de CDR3 de SEQ ID NO: 19; ou

(c) uma sequência de CDR1 de SEQ ID NO: 1, uma sequência de CDR2 de SEQ ID NO: 12 e uma sequência de CDR3 de SEQ ID NO: 20,

num framework de VH humano.

14. Anticorpo apenas de cadeia pesada, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 13, caracterizado pelo fato de que é multiespecífico.

15. Anticorpo apenas de cadeia pesada, de acordo com a reivindicação 14, caracterizado pelo fato de que é biespecífico.

16. Anticorpo apenas de cadeia pesada, de acordo com a reivindicação 15, caracterizado pelo fato de que tem afinidade de ligação com duas proteínas de CD22 diferentes.

17. Anticorpo apenas de cadeia pesada, de acordo com a reivindicação 15, caracterizado pelo fato de que tem afinidade de liga-

ção com dois epítopos diferentes na mesma proteína de CD22.

18. Anticorpo apenas de cadeia pesada, de acordo com a reivindicação 14, caracterizado pelo fato de que tem afinidade de ligação com uma célula efetora.

19. Anticorpo apenas de cadeia pesada, de acordo com a reivindicação 14, caracterizado pelo fato de que tem afinidade de ligação com um antígeno de célula T.

20. Anticorpo apenas de cadeia pesada, de acordo com a reivindicação 19, caracterizado pelo fato de que tem afinidade de ligação com CD3.

21. Anticorpo apenas de cadeia pesada, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 20, caracterizado pelo fato de que está num formato de CAR-T.

22. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que compreende um anticorpo apenas de cadeia pesada, como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 21.

23. Método para o tratamento de um distúrbio de célula B, caracterizado pela expressão de CD22 que compreende administrar a um indivíduo com o dito distúrbio um anticorpo, como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 21, ou uma composição farmacêutica, como definida na reivindicação 22.

24. Uso de um anticorpo, como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 21, caracterizado pelo fato de que é destinado à preparação de um medicamento para o tratamento de um distúrbio de célula B distinguido pela expressão de CD22.

25. Anticorpo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 21, caracterizado pelo uso no tratamento de um distúrbio de célula B distinguido pela expressão de CD22.

26. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 23 a 25, caracterizado pelo fato de que o distúrbio é linfoma de

célula B grande difusa (DLBCL).

27. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 23 a 25, caracterizado pelo fato de que o distúrbio é linfoma não Hodgkin (NHL).

28. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 23 a 25, caracterizado pelo fato de que o distúrbio é lúpus eritematoso sistêmico (SLE).

29. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 23 a 25, caracterizado pelo fato de que o distúrbio é artrite reumatoide (RA).

30. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 23 a 25, caracterizado pelo fato de que o distúrbio é esclerose múltipla (MS).

31. Polinucleotídeo, caracterizado pelo fato de que codifica um anticorpo, como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 21.

32. Vetor, caracterizado pelo fato de que compreende o polinucleotídeo, como definido na reivindicação 31.

33. Célula, caracterizada pelo fato de que compreende o vetor, como definido na reivindicação 32.

34. Método para produzir um anticorpo, como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 21, caracterizado pelo fato de que compreende cultivar uma célula, como definida na reivindicação 33, sob condições permissivas para expressão do anticorpo e isolar o anticorpo da célula.

35. Método para fabricar anticorpo, como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 21, caracterizado pelo fato de que compreende imunizar um animal UniRat com CD22 e identificar sequências de cadeia pesada de ligação ao CD22.

FIG. 1

SEQ aa CDRI	SEQ aa CDR2	SEQ aaCDR3
GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYSGVT (SEQ ID NO: 11)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
GDSISSGGYY (SEQ ID NO: 2)	IYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
GGSISSGDYY (SEQ ID NO: 3)	IYSGAT (SEQ ID NO: 13)	TREDSSWRS (SEQ ID NO: 20)
GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYTGST (SEQ ID NO: 14)	AREDSSWRS (SEQ ID NO: 21)
GGSFSGYY (SEQ ID NO: 5)	VYTGAT (SEQ ID NO: 15)	KRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 22)
GDSISSSSYY (SEQ ID NO: 6)	IHYSGST (SEQ ID NO: 16)	ARDDSSNWRS (SEQ ID NO: 23)
GGTITSSSSYY (SEQ ID NO: 7)	IYSGSA (SEQ ID NO: 17)	
GGSISSSHY (SEQ ID NO: 8)		
GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 9)		
GGIINDNSHY (SEQ ID NO: 10)		

FIG. 2

Nº de ID de Clone	SEQ_aa_FRI_FR4	SEQ ID NO:
335207	QLLQESGPGLVKPSLTLCTVSGDSISSGDY YWGWIRQPPGKLEWIGHIY YSGVTYYNPSLKS R VTISVDTSRNQFSLKLSVTAADTAVYYCTREDSSNWRSRGQGLVTVSS	24
335161	QLLQESGPGLVKPSLTLCTVSGDSISSGDY YWGWIRQPPGKLEWIGHIY YSGATYYNPSLE NR VTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCTRDDSSNWRSRGQGLVTVSS	25
335254	QLLQESGPGLVKPSLTLCTVSGDSISSGDY YWGWIRQPPGKLEWIGHIY YSGVTYYNPSLKN R VTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCTREDSSWRSRGGQGLVTVSS	26
335260	QLLQESGPGLVKPSLTLCTVSGDSISSGDY YWGWIRQPPGKLEWIGHIY YSGVTYYNPSLKN R VTISVDTSRNQFSLNLSVTAADTAVYYCTREDSSWRSRGGQGLVTVSS	27
335151	QLLQESGPGLVKPSLTLCTVSGDSISSGDY YWGWIRQPPGKLEWIGHIY YSGATYYNPSLKN R VTISVDTSRNQFSLNLSVTAADTAVYYCTRDDSSNWRSRGQGLVTVSS	28
335170	QLLQESGPGLVKPSLTLCTVSGDSISSGDY YWGWIRQPPGKLEWIGHIY YSGATYYNPSLKN R VTISVDTSRNQFSLKLSVTAADTAVYYCTRDDSSNWRSRGQGLVTVSS	29
335176	QLLQESGPGLVKPSLTLCTVSGDSISSGDY YWGWIRQPPGKLEWIGHIY YSGATYYNPSLKN R VTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCTRDDSSNWRSRGQGLVTVSS	30
335181	QLLQESGPGLVKPSLTLCTVSGDSISSGDY YWGWIRQPPGKLEWIGHIY YSGATYYNPSLKN R VTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCTRDDSSNWRSRGQGLVTVSS	31
335244	QLLQESGPGLVKPSLTLCTVSGDSISSGDY YWGWIRQPPGKLEWIGHIY YSGATYYNPSLKN R VTISVDTSRNQFSLNLSVTAADTAVYYCTREDSSWRSRGGQGLVTVSS	32
335154	QLLQESGPGLVKPSLTLCTVSGDSISSGDY YWGWIRQPPGKLEWIGHIY YSGVTYYNPSLKN R VTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCTRDDSSNWRSRGQGLVTVSS	33
335201	QLLQESGPGLVKPSLTLCTVSGDSISSGDY YWGWIRQPPGKLEWIGHIY YSGVTYYNPSLKN R VTISVDTSRNQFSLKLSVTAADTAVYYCTREDSSNWRSRGQGLVTVSS	34
335261	QLLQESGPGLVKPSLTLCTVSGDSISSGDY YWGWIRQPPGKLEWIGHIY YSGATYYNPSLE NR VTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCTREDSSWRSRGGQGLVTVSS	35
335293	QLLQESGPGLVKPSLTLCTVSGDSISSGDY YWGWIRQPPGKLEWIGHIY YSGATYYNPSLKN R VTISVDTSRNQFSLKLSVTAADTAVYYCTREDSSWRSRGGQGLVTVSS	36
335203	QLLQESGPGLVKPSLTLCTVSGDSISSGDY YWGWIRQPPGKLEWIGHIY YSGVTYYNPSLKN R VTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCTREDSSNWRSRGQGLVTVSS	37

FIG. 2 (cont)

Nº de ID de Clone	SEQ_aa_FRI_FR4	SEQ ID NO:
335185	QLQLQESGPGLVKPSLETSLTCTVSGDSISSGDYYWGWIRQPPGKLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNR VTISVDTSRNQFSLNLSVTAADTA VYYCTREDSSNWRSRGQGTLVTVSS	38
335206	QLQLQESGPGLVKPSLETSLTCTVSGDSISSGDYYWGWIRQPPGKLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNR VTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTA VYYCTREDSSNWRSRGQGTLVTVSS	39
335245	QLQLQESGPGLVKPSLETSLTCTVSGDSISSGDYYWGWIRQPPGKLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNR VTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTA VYYCTREDSSNWRSRGQGTLVTVSS	40
335218	QLQLQESGPGLVKPSLETSLTCTVSGDSISSGDYYWGWIRQPPGKLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNR VTISVDTSRNQFSLKLSVTAADTA VYYCTREDSSNWRSRGQGTLVTVSS	41
335160	QLQLQESGPGLVKPSLETSLTCTVSGDSISSGDYYWGWIRQPPGKLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNR VTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTA VYYCTREDSSNWRSRGQGTLVTVSS	42
335158	QLQLQESGPGLVKPSLETSLTCTVSGDSISSGDYYWGWIRQPPGKLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNR VTISVDTSRNQFSLKLSVTAADTA VYYCTREDSSNWRSRGQGTLVTVSS	43
324508	QLQLQESGPGLVKPSLETSLTCTVSGDSISSGDYYWGWIRQPPGKLEWIGHIYYSGATYYNPSLENR VTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTA VYYCTREDSSNWRSRGQGTLVTVSS	44
335307	QLQLQESGPGLVKPSLETSLTCTVSGDSISSGDYYWGWIRQPPGKLEWIGHIYYSGATYYNPSLKS RV TISVDTSKNQFSLKLSVTAADTA VYYCTREDSSNWRSRGQGTLVTVSS	45
335301	QLQLQESGPGLVKPSLETSLTCTVSGDSISSGDYYWGWIRQPPGKLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNR VTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTA VYYCTREDSSNWRSRGQGTLVTVSS	46
335323	QLQLQESGPGLVKPSLETSLTCTVSGDSISSGDYYWGWIRQPPGKLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNR VTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTA VYYCTREDSSNWRSRGQGTLVTVSS	47
335271	QLQLQESGPGLVKPSLETSLTCTVSGDSISSGDYYWGWIRQPPGKLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNR VTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTA VYYCTREDSSNWRSRGQGTLVTVSS	48
335234	QLQLQESGPGLVKPSLETSLTCTVSGDSISSGDYYWGWIRQPPGKLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNR VTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTA VYYCTREDSSNWRSRGQGTLVTVSS	49
335182	QLQLQESGPGLVKPSLETSLTCTVSGDSISSGDYYWGWIRQPPGKLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNR VTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTA VYYCTREDSSNWRSRGQGTLVTVSS	50
335186	QLQLQESGPGLVKPSLETSLTCTVSGDSISSGDYYWGWIRQPPGKLEWIGHIYYSGATYYNPSLKS RV TISVDTSKNQFSLKLSVTAADTA VYYCTREDSSNWRSRGQGTLVTVSS	51
335233	QLQLQESGPGLVKPSLETSLTCTVSGDSISSGDYYWGWIRQPPGKLEWIGHIYYSGATYYNPSLKS RV TISVDTSKNQFSLKLSVTAADTA VYYCTREDSSNWRSRGQGTLVTVSS	52

FIG. 2 (cont)

Nº de ID de Clone	SEQ_aa_FRI_FR4	SEQ ID NO:
335224	QLQLQESGPGLVKPSLETSLTCTVSGDSISSGDYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYTGSTYYNPSLKS TISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCTREDSSNWRSRGQGLVTVSS	53
335210	QLQLQESGPGLVKPSLETSLTCTVSGDSISSGDYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYSGATYYNPSLKNR VTISVDTSRNQFSLKLSVTAADTAVYYCTREDSSNWRSRGQGLVTVSS	54
335311	QLQLQESGPGLVKPSLETSLTCAVYGGFSGYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYSGATYYNPSLKNRV TISVDTSRNQFSLNLSVTAADTAVYYCTREDSSNWRSRGQGLVTVSS	55
335159	QLQLQESGPGLVKPSLETSLTCTVSGDSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYSGVTTYNPSLKNR VTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAAAYCTRDDSSNWRSRGQGLVTVSS	56
335188	QLQLQESGPGLVKPSLETSLTCTVSGDSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYSGVTTYNPSLKNR VTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCTRDDSSNWRSRGQGLVTVSS	57
335274	QLQLQESGPGLVKPSLETSLTCTVSGDSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYSGSTYYNPSLKS TISVDTSRNQFSLNLSVTAADTAVYYCTREDSSNWRSRGQGLVTVSS	58
335226	QLQLQESGPGLVKPSLETSLTCTVSGDSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYSGSTYYNPSLKS TISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCTREDSSNWRSRGQGLVTVSS	59
335333	QLQLQESGPGLVKPSLETSLTCTVSGDSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYSGSTYYNPSLKS TISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCAREDSNWRSRGQGLVTVSS	60
335283	QLQLQESGPGLVKPSLETSLTCTVSGDSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYSGATYYNPSLKNRV TISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCTREDSSNWRSRGQGLVTVSS	61
335297	QLQLQESGPGLVKPSLETSLTCTVSGDSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYSGATYYNPSLKNR VTISVDTSRNQFSLNLSVTAADTAVYYCTREDSSNWRSRGQGLVTVSS	62
335273	QLQLQESGPGLVKPSLETSLTCTVSGDSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYSGSTYYNPSLKS TISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCTREDSSNWRSRGQGLVTVSS	63
335187	QLQLQESGPGLVKPSLETSLTCTVSGDSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYSGATYYNPSLKNR VTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCTRDDSSNWRSRGQGLVTVSS	64
335295	QLQLQESGPGLVKPSLETSLTCTVSGDSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYSGATYYNPSLKNRV TISVDTSRNQFSLNLSVTAADTAVYYCTREDSSNWRSRGQGLVTVSS	65
335220	QLQLQESGPGLVKPSLETSLTCTVSGDSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYSGSTYYNPSLKNRV TISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCTREDSSNWRSRGQGLVTVSS	66
335173	QLQLQESGPGLVKPSLETSLTCTVSGDSITSSSYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYSGSTYYNPSLKS TISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCTRDDSSNWRSRGQGLVTVSS	67

FIG. 2 (cont)

Nº de ID de Clone	SEQ_aa_FRI_FR4	SEQ ID NO:
335219	QLQLQESGPGLVKPSVETLSLCTVSGGSISSSYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYSGVTYYNPSLKNRV TISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYCTREDSSNWRSRGQGLVTVSS	68
335236	QLQLQESGPGLVKPSVETLSLCTVSGGSISSSYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYSGVTYYNPSLKNRV TISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYCTREDSSNWRSRGQGLVTVSS	69
335266	QLQLQESGPGLVKPSVETLSLCTVSGGSISSSYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYSGVTYYNPSLKNRV TISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYCTREDSSNWRSRGQGLVTVSS	70
335208	QLQLQESGPGLVKPSVETLSLCTVSGGSISSSYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYSGVTYYNPSLKNRV TISVDTSRNQFSLNLSVTAADTAVYCTREDSSNWRSRGQGLVTVSS	71
335195	QLQLQESGPGLVKPSVETLSLCTVSGGSISSSYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYSGVTYYNPSLKNRV TISVDTSRNQFSLNLSVTAADTAVYCTREDSSNWRSRGQGLVTVSS	72
335285	QLQLQESGPGLVKPSVETLSLCTVSGGSISSSYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYSGVTYYNPSLKNRV TISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYCTREDSSNWRSRGQGLVTVSS	73
335150	QLQLQESGPGLVKPSVETLSLCTVSGDSSISDYYWGWIRQSPKGLEWIGHIYSGVTYYNPSLKNR VTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYCKRDDSSNWRSRGQGLVTVSS	74
335316	QLQLQESGPGLVKPSVETLSLCTVSGGSISSSYWGWIRQPPGKGLEWIGHIYSGVTYYNPSLKNR VTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYCTREDSSNWRSRGQGLVTVSS	75
335189	QLQLQESGPGLVKPSVETLSLCTVSGGSISSSYWGWIRQPPGKGLEWIGSVYYTGTATYYNPSLKNR VTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYCTRDDSSNWRSRGQGLVTVSS	76
335179	QLQLQESGPGLVKPSVETLSLCTVSGGSISSSYWGWFRHPPGKGLDWIGSIHYSVTYYNPSLKNRV TISVDTSRNQFSLNLSVTAADTAVYCTRDDSSNWRSRGQGLVTVSS	77
335230	QLQLQESDPLVKPSVETLSLCTVSGGSISSSHYWGWIRQPPGKGLEWIGHIYSGVTYYNPSLKNR VTISVDTSRNQFSLNLSVTAADTAVYCTREDSSNWRSRGQGLVTVSS	78
335166	QLQLQESGPGLVKPSVETLSLCTVSGGSISSSYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYSGVTYYNPSLKNRV TISVDTSRNQFSLNLSVTAADTAVYCTRDDSSNWRSRGQGLVTVSS	79
335242	QLQLQESGPGLVKPSVETLSLCTVSGGSISSSYWGWIRQPPGKGLEWIGHIYSGVTYYNPSLKNR VTISVDTSRNQFSLNLSVTAADTAVYCTREDSSNWRSRGQGLVTVSS	80
335162	QLQLQESGPGLVKPSVETLSLCTVSGGSISSSYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYSGSAYYHPSLKNRV TISIDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYCARDSSNWRSRGQGLVTVSS	81
335171	QLQLQESGPGLVKPSVETLSLCTVSGGSISSSYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYSGVTYYNPSLKNRV TISVDTSRNQFSLNLSVTAADTAVYCTRDDSSNWRSRGQGLVTVSS	82

FIG. 2 (cont)

Nº de ID de Clone	SEQ_aa_FR1_FR4	SEQ ID NO:
335232	QLLQESGPGLVKPSSETLSLCTVSGDSISSGDYVWGWIRQPPGKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNR VTISVDTSRNQSSLNLSVTAADTAVYYCTREDSSNWRSRGQGTLLVTVSS	83
335263	QLLQESGPGLVKPSSETLSLCTVSGGSINDNSHYWGWIRQPPGKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNR VTISVDTSRNQFSLNLSVTAADTAVYYCTREDSSWRSRGQGTLLVTVSS	84

FIG. 3

Nº de ID de Clone	SEQ_aa_CDRI	SEQ_aa_CDR2	SEQ_aa_CDR3
335207	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGV (SEQ ID NO: 11)	TREDSNNWRS (SEQ ID NO: 18)
335161	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TRDSSNNWRS (SEQ ID NO: 19)
335254	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGV (SEQ ID NO: 11)	TREDSNNWRS (SEQ ID NO: 20)
335260	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGV (SEQ ID NO: 11)	TREDSNNWRS (SEQ ID NO: 20)
335151	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TRDSSNNWRS (SEQ ID NO: 19)
335170	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TRDSSNNWRS (SEQ ID NO: 19)
335176	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TRDSSNNWRS (SEQ ID NO: 19)
335181	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 2)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TRDSSNNWRS (SEQ ID NO: 19)
335244	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSNNWRS (SEQ ID NO: 20)
335154	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGV (SEQ ID NO: 11)	TRDSSNNWRS (SEQ ID NO: 19)
335201	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGV (SEQ ID NO: 11)	TREDSNNWRS (SEQ ID NO: 18)
335261	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSNNWRS (SEQ ID NO: 20)
335293	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSNNWRS (SEQ ID NO: 20)
335203	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGV (SEQ ID NO: 11)	TREDSNNWRS (SEQ ID NO: 18)
335185	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSNNWRS (SEQ ID NO: 18)
335206	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSNNWRS (SEQ ID NO: 18)
335245	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSNNWRS (SEQ ID NO: 20)
335218	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSNNWRS (SEQ ID NO: 18)
335160	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TRDSSNNWRS (SEQ ID NO: 19)
335158	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 3)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TRDSSNNWRS (SEQ ID NO: 19)
324508	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 3)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TRDSSNNWRS (SEQ ID NO: 19)
335307	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGST (SEQ ID NO: 13)	TREDSNNWRS (SEQ ID NO: 20)
335301	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSNNWRS (SEQ ID NO: 20)
335323	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 2)	IYYSGST (SEQ ID NO: 13)	TREDSNNWRS (SEQ ID NO: 20)
335271	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSNNWRS (SEQ ID NO: 20)
335234	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSNNWRS (SEQ ID NO: 18)
335182	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TRDSSNNWRS (SEQ ID NO: 19)
335186	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGST (SEQ ID NO: 13)	TRDSSNNWRS (SEQ ID NO: 19)

FIG. 3 (cont)

Nº de ID de Clone	SEQ_aa_CDR1	SEQ_aa_CDR2	SEQ_aa_CDR3
335233	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYSGST (SEQ ID NO: 13)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335224	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYTGST (SEQ ID NO: 14)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335210	GGSISSGDYY (SEQ ID NO: 3)	IYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335311	GGFSFGYY (SEQ ID NO: 5)	IYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335159	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYSGVT (SEQ ID NO: 11)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335188	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYSGVT (SEQ ID NO: 11)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335274	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYSGST (SEQ ID NO: 13)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335226	GDSISSSSYY (SEQ ID NO: 6)	IYSGST (SEQ ID NO: 13)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335333	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYSGST (SEQ ID NO: 13)	AREDSSWRS (SEQ ID NO: 21)
335283	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335297	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335273	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYSGST (SEQ ID NO: 13)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335187	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335295	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335220	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYSGST (SEQ ID NO: 13)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335173	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 7)	IYSGST (SEQ ID NO: 13)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335219	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYSGVT (SEQ ID NO: 11)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335236	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYSGST (SEQ ID NO: 13)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335266	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYSGST (SEQ ID NO: 13)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335208	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335195	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335285	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYSGVT (SEQ ID NO: 11)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335150	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYSGVT (SEQ ID NO: 11)	KRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 22)
335316	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335189	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	VYYTGAT (SEQ ID NO: 15)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335179	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IHYSGST (SEQ ID NO: 16)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335230	GGSISSSSHY (SEQ ID NO: 8)	IYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335166	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYSGST (SEQ ID NO: 13)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335242	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335162	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 9)	IYSGSA (SEQ ID NO: 17)	ARDDSSNWRS (SEQ ID NO: 23)

FIG. 3 (cont)

Nº de ID de Clone	SEQ_aa_CDRI	SEQ_aa_CDR2	SEQ_aa_CDR3
335171	GGSISSSY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TRDDSSNWR (SEQ ID NO: 19)
335232	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSNWR (SEQ ID NO: 18)
335263	GGINDNSHY (SEQ ID NO: 10)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSNWR (SEQ ID NO: 20)

FIG. 4

Nº de ID de Clone	KD (M)	Kdis (1/s)	Ligação Daudi	CHO cyCD22	CHO cyOFFtgt
335161	2,66E-09	2,40E-04	811,0	208,0	5,2
335254	2,83E-09	2,45E-04	733,0	194,0	5,1
335260	3,17E-09	2,75E-04	725,0	185,0	5,1
335207	3,24E-09	2,94E-04	776,0	209,0	5,3
335151	3,77E-09	3,21E-04	861,0	222,0	5,3
335170	6,50E-09	3,40E-04	791,0	181,0	5,3
335176	4,62E-09	3,79E-04	848,0	212,0	5,3
335181	9,44E-09	4,43E-04	809,0	234,0	5,4
335244	5,07E-09	4,45E-04	752,0	198,0	5,2
335154	5,41E-09	4,46E-04	837,0	232,0	5,3
335201	5,19E-09	4,67E-04	761,0	199,0	5,5
335261	5,27E-09	5,10E-04	748,0	181,0	5,1
324510	6,42E-09	5,54E-04	690,0	172,0	5,2
335293	7,41E-09	5,57E-04	742,0	179,0	5,3
335203	6,80E-09	6,41E-04	729,0	194,0	5,3
335185	8,43E-09	6,47E-04	754,0	220,0	5,5
324317	8,48E-09	6,58E-04	709,0	173,0	5,2
335206	7,53E-09	6,90E-04	735,0	189,0	5,3
335245	7,44E-09	7,02E-04	742,0	192,0	5,4
335218	8,91E-09	7,05E-04	711,0	204,0	5,1
335160	8,51E-09	7,24E-04	750,0	218,0	5,2
335158	4,23E-08	8,01E-04	883,0	193,0	5,4
324508	1,25E-08	8,28E-04	839,0	162,0	5,2
335307	1,03E-08	1,02E-03	737,0	176,0	5,0
335301	1,26E-08	1,29E-03	716,0	166,0	5,0
335323	1,41E-08	1,30E-03	720,0	169,0	5,3
335271	2,16E-08	1,31E-03	711,0	147,0	5,2
335234	1,24E-08	1,37E-03	734,0	161,0	5,2
335182	2,24E-08	1,58E-03	750,0	192,0	5,3

FIG. 4 (cont)

Nº de ID de Clone	KD (M)	Kdis (1/s)	Ligação Daudi	CHO cyCD22	CHO cyOFFtgt
335186	1,76E-08	1,72E-03	402,0	33,5	5,5
335233	1,90E-08	2,01E-03	697,0	166,0	5,3
335224	2,34E-08	2,07E-03	689,0	173,0	5,4
335210	6,25E-08	2,28E-03	735,0	159,0	5,2
335311	2,66E-09	2,77E-03	151,0	11,7	5,1
335159	1,61E-08	3,58E-03	532,0	61,7	5,4
335188	5,30E-08	4,12E-03	663,0	113,0	5,3
335274	2,36E-08	4,30E-03	414,0	26,0	5,1
335226	2,55E-08	4,37E-03	221,0	12,0	5,2
335333	2,24E-08	4,37E-03	372,0	21,2	5,0
335283	3,69E-08	4,57E-03	513,0	42,4	5,2
335297	2,88E-08	4,80E-03	107,0	12,3	5,2
335273	4,22E-08	4,87E-03	385,0	23,1	5,2
335187	1,28E-07	5,12E-03	531,0	60,7	6,0
335295	3,16E-08	5,21E-03	491,0	43,8	5,1
335220	4,82E-08	5,31E-03	322,0	18,4	5,4
335173	3,05E-08	5,43E-03	393,0	26,7	5,5
335219	9,06E-08	5,50E-03	590,0	76,2	5,2
335236	2,73E-08	5,62E-03	338,0	18,4	5,3
335266	3,85E-08	5,79E-03	411,0	29,2	5,1
335208	5,84E-08	5,93E-03	452,0	34,0	5,4
335195	1,50E-07	5,99E-03	420,0	33,0	5,4
335285	1,14E-07	6,07E-03	620,0	94,7	5,1
335150	1,41E-08	6,08E-03	86,3	8,8	5,2
335316	2,35E-08	6,62E-03	103,0	9,6	5,1
335189	3,60E-08	6,92E-03	410,0	28,6	5,3
335179	1,48E-07	8,91E-03	88,8	10,5	5,5
335230	7,52E-08	8,92E-03	47,1	7,8	5,3
335166	3,30E-08	9,15E-03	422,0	35,5	5,2
335242	7,97E-08	9,30E-03	136,0	11,3	5,2
335162	9,96E-08	9,41E-03	23,3	9,1	5,2

FIG. 4 (cont)

Nº de ID de Clone	KD (M)	Kdis (1/s)	Ligação Daudi	CHO_cyCD22	CHO_cyOFFtgt
335171	8,45E-08	1,24E-02	471,0	39,0	5,4
335232	2,46E-08	1,83E-02	288,0	42,5	5,3
335263	2,58E-06	3,85E-02	30,0	8,2	5,2

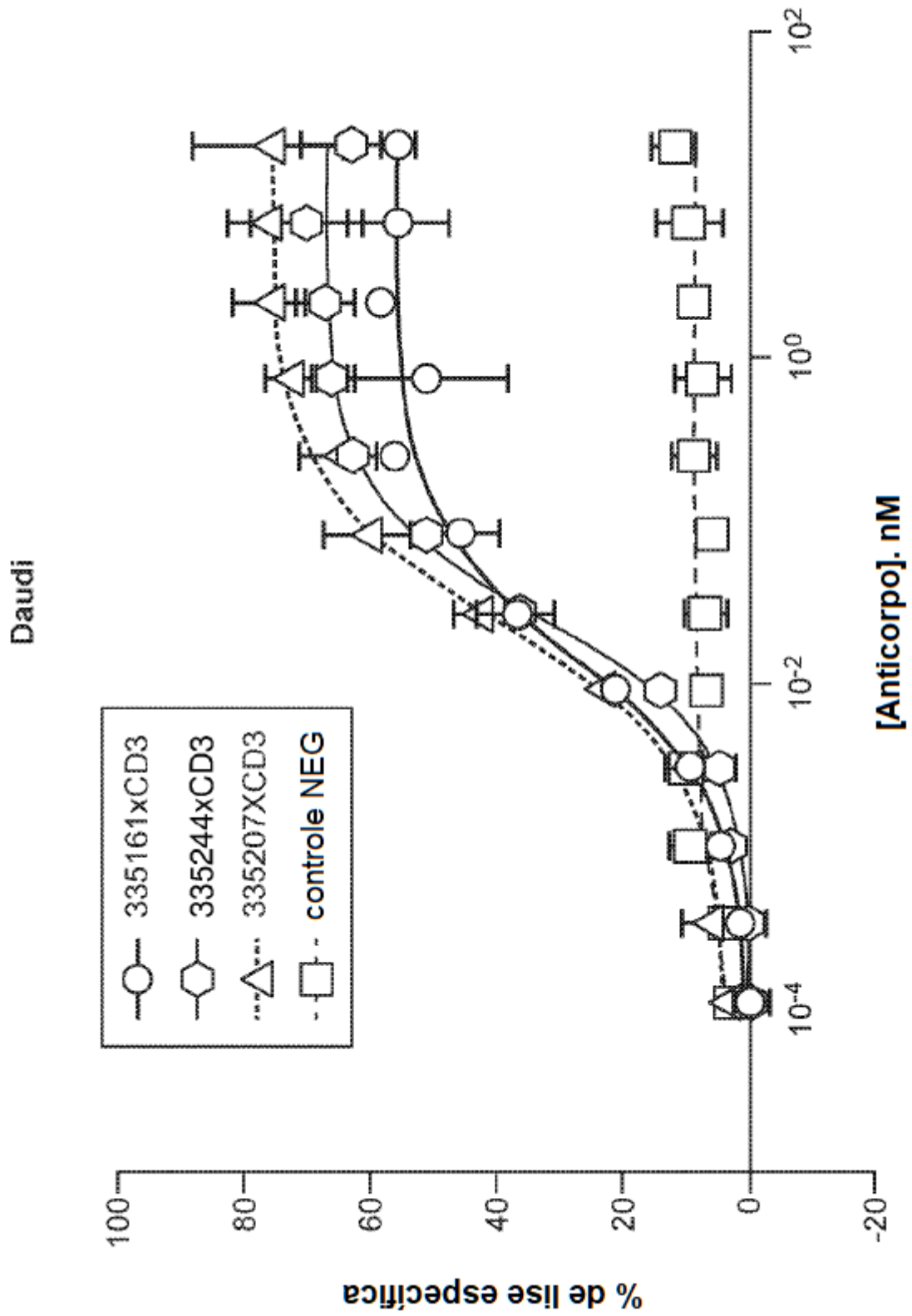


FIG. 5A

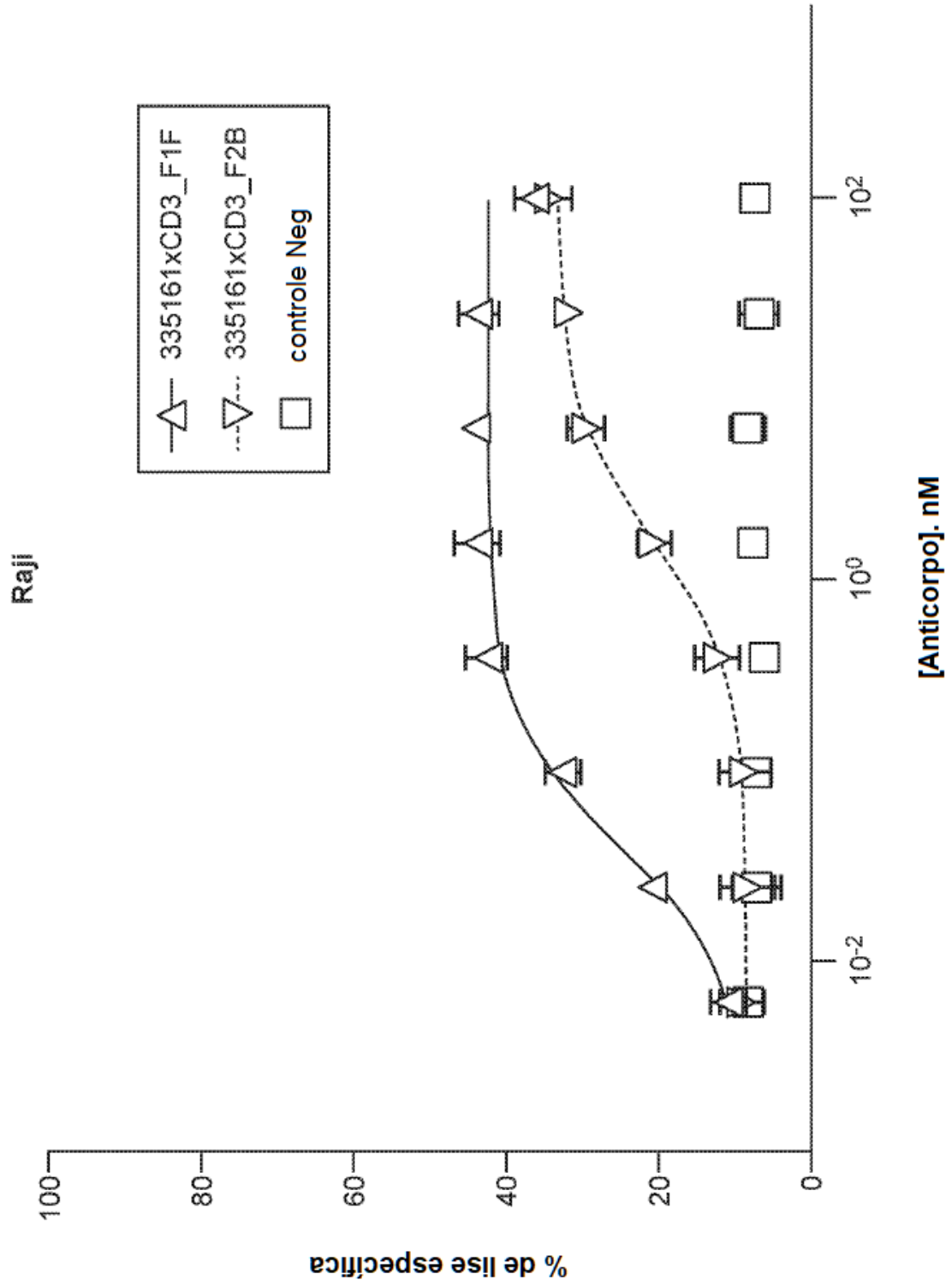


FIG. 5B

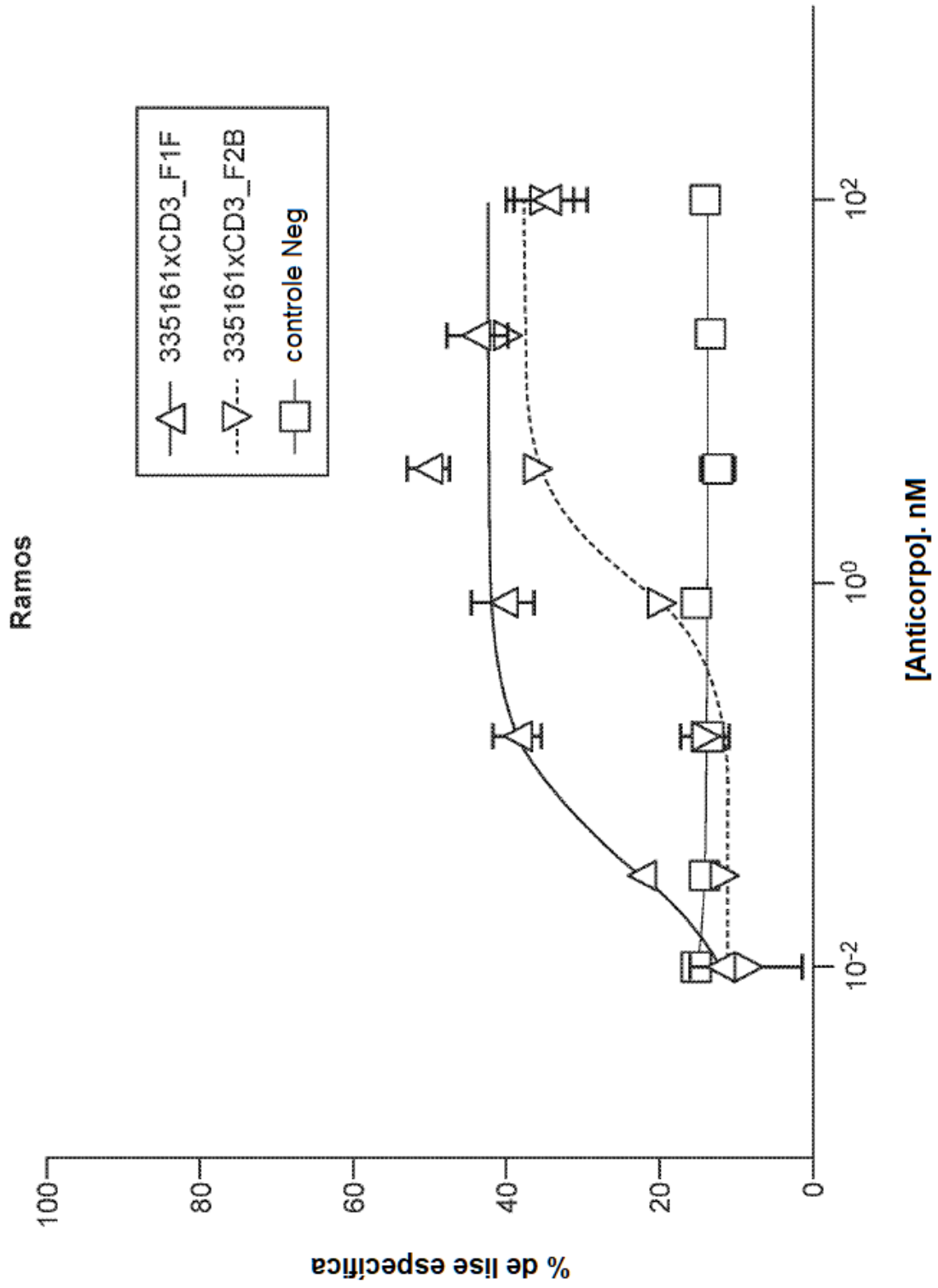


FIG. 5C

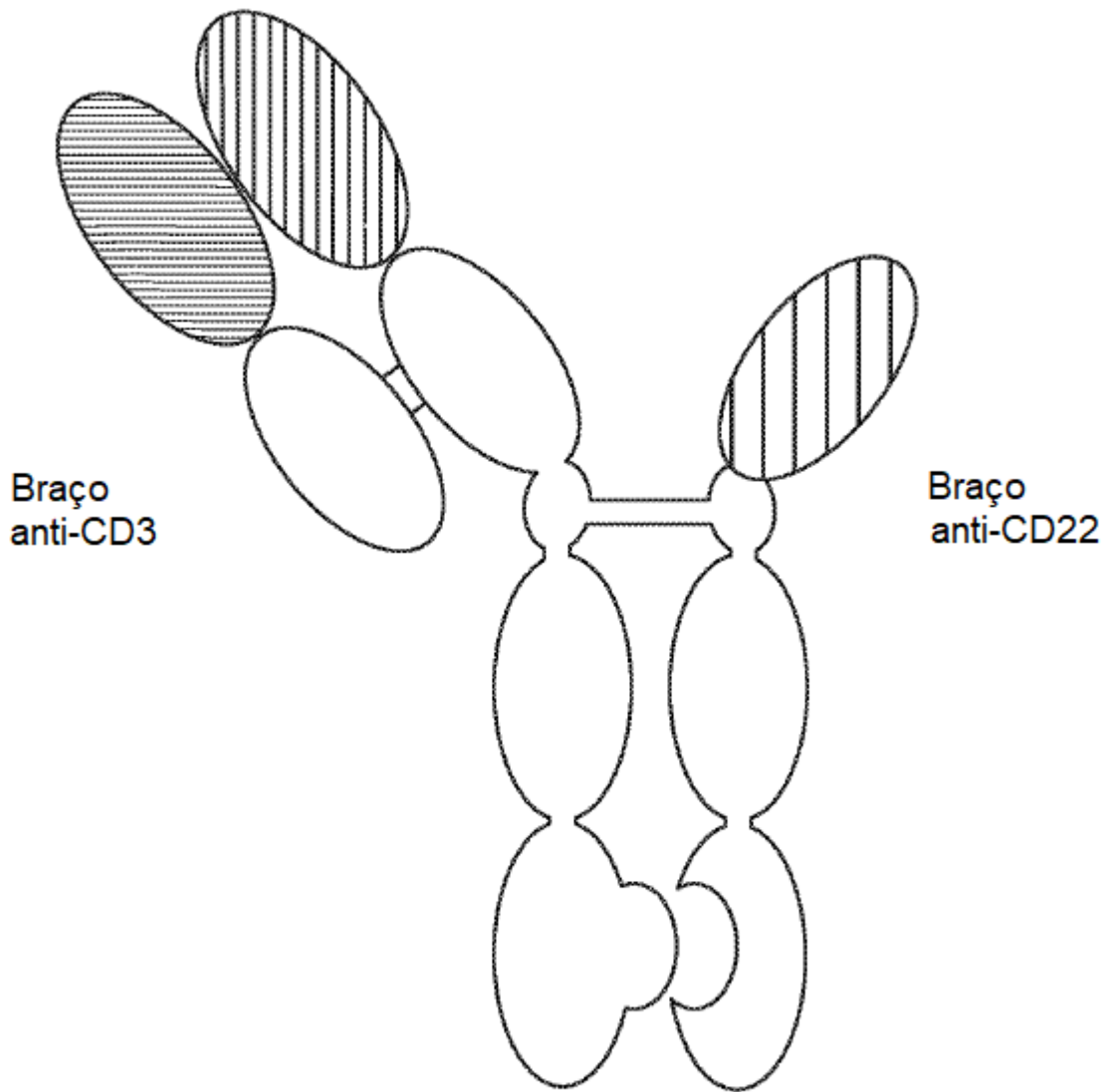


FIG. 5D

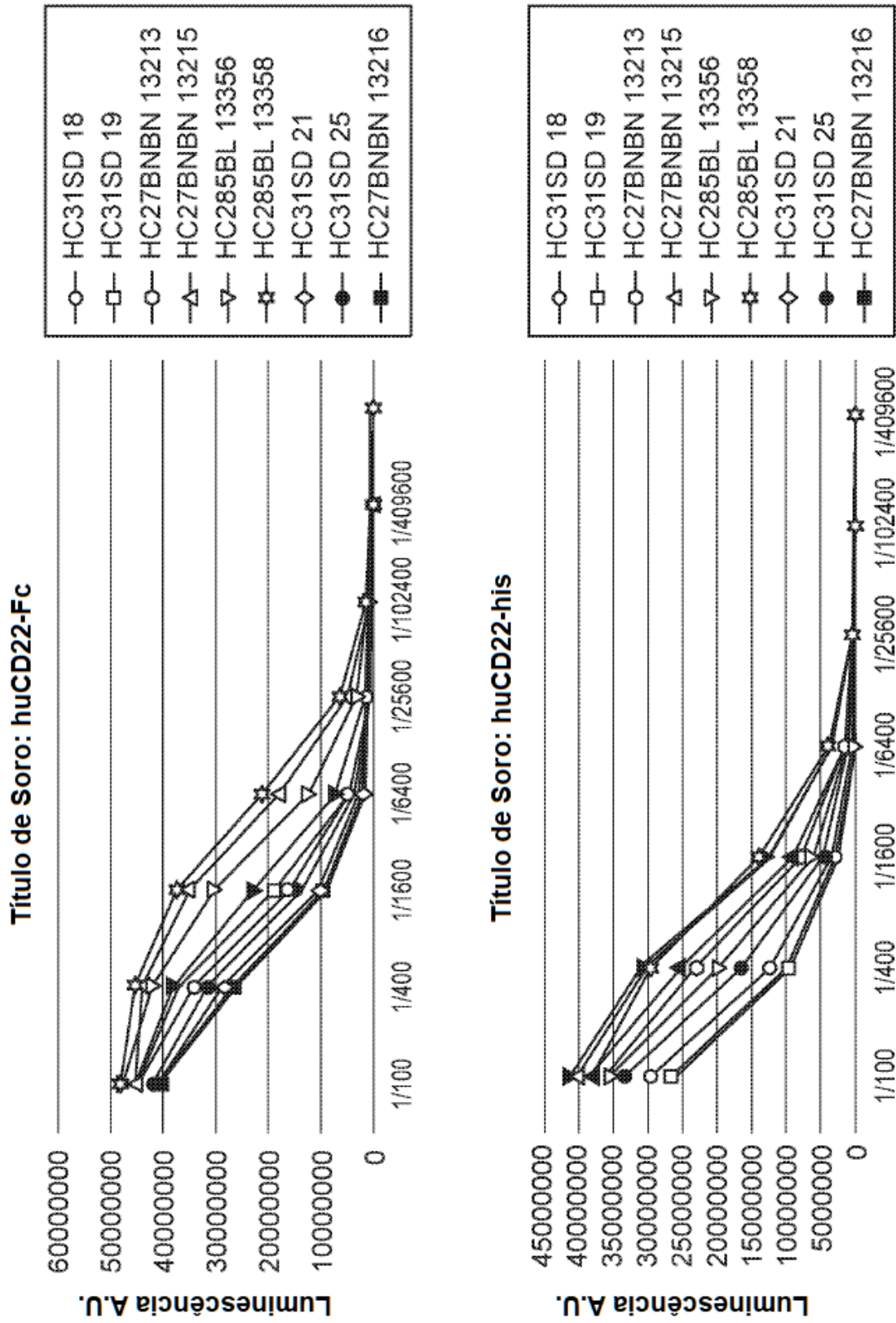


FIG. 6

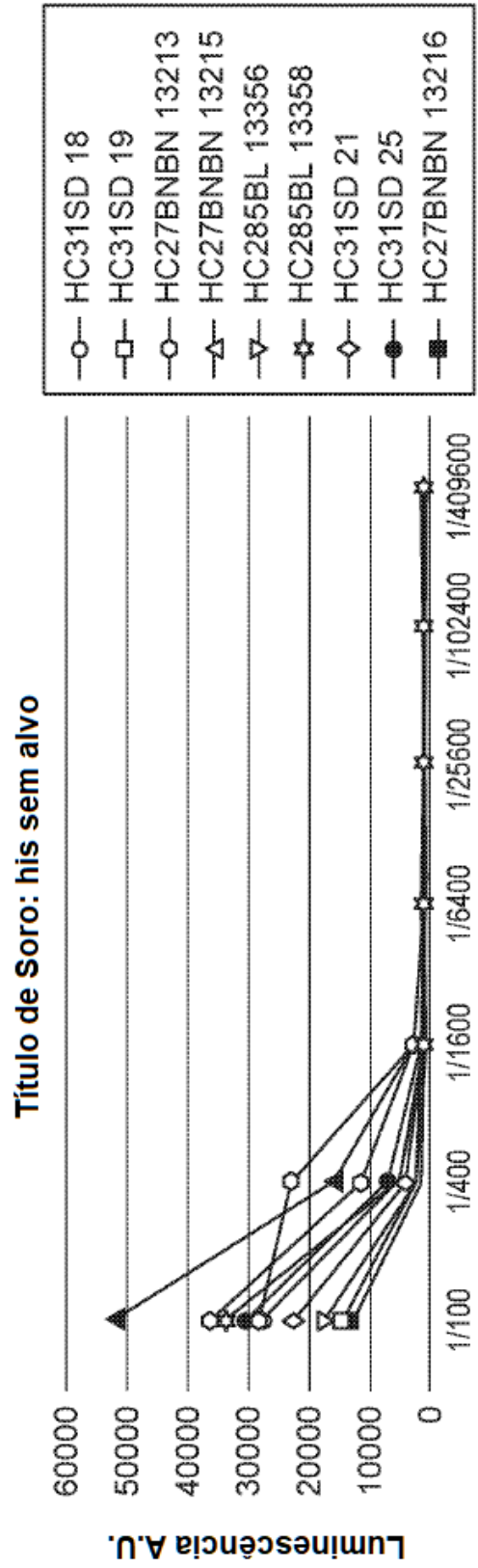
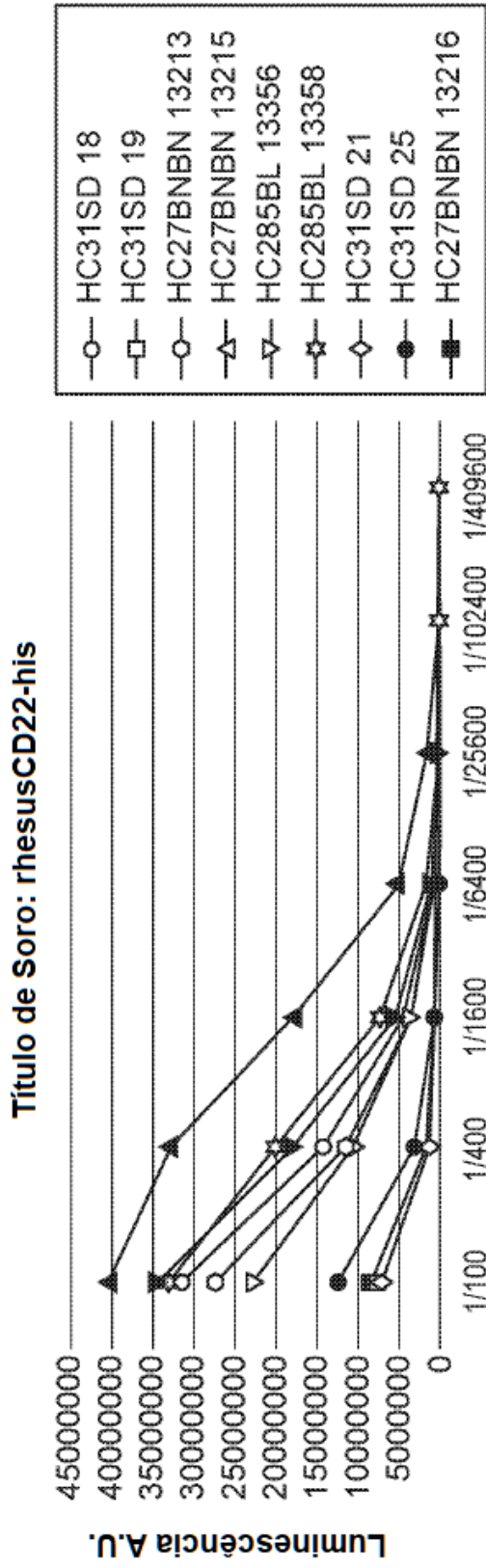


FIG. 6 (Cont.)

RESUMO

Patente de Invenção: **"ANTICORPOS DE CADEIA PESADA QUE SE LIGAM A CD22"**.

A presente invenção refere-se a anticorpos de cadeia pesada anti-CD22 (por exemplo, UniAbsTM), juntamente com métodos para fabricar tais anticorpos, composições, incluindo composições farmacêuticas que compreendem tais anticorpos, e seu uso para tratar distúrbios de célula B que são caracterizados pela expressão de CD22.

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

Código de Controle

Campo 1



Campo 2



Outras Informações:

- Nome do Arquivo: P247778 ListSeq.txt
- Data de Geração do Código: 19/06/2020
- Hora de Geração do Código: 14:46:54
- Código de Controle:
 - Campo 1: C0FF71E43FE77DB6
 - Campo 2: A95F90143A38F37B