I640535

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 **(11)證書號數：TW I640535 B**

(45)公告日： 中華民國 107 (2018) 年 11 月 11 日

(21)申請案號：104111006 (22)申請日： 中華民國 98 (2009) 年 01 月 14 日

(51)Int. Cl.： *C07K16/24 (2006.01)* *A61K39/395 (2006.01)*
A61K47/50 (2017.01) *C12N15/13 (2006.01)*
A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2008/01/31 美國 61/025,137
2008/02/29 美國 61/032,790
2008/05/20 美國 61/054,709

(71)申請人：建南德克公司 (美國) GENENTECH, INC. (US)
美國

(72)發明人：陳依凡 CHEN, YVONNE (US)；迪尼司 馬克 DENNIS, MARK (US)；多那 大衛 DORNAN, DAVID (GB)；依克林 克利斯堤 ELKINS, KRISTI (US)；瓊杜拉 賈格 瑞迪 JUNUTULA, JAGATH REDDY (IN)；波森 安佐 POLSON, ANDREW (US)；鄭冰 ZHENG, BING (CN)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：
WO 2006/034488A2

審查人員：林奕萍

申請專利範圍項數：59 項 圖式數：51 共 515 頁

(54)名稱

抗-ＣＤ７９Ｂ抗體及免疫共軛物及使用方法

ANTI-CD79B ANTIBODIES AND IMMUNOCONJUGATES AND METHODS OF USE

(57)摘要

本發明係關於可用於治療哺乳動物之造血腫瘤之物質組合物，及使用該等物質組合物來治療造血腫瘤之方法。

The present invention is directed to compositions of matter useful for the treatment of hematopoietic tumor in mammals and to methods of using those compositions of matter for the same.

指定代表圖：

CAGGGGACAGGCTGCAGCCGGTGCAGTTACACGTTTTCCTCCAAGGAGCCTCGGACGTTG
TCACGGGTTTGGGGTCGGGGACAGAGCAGTGACC**ATG**GCCAGGCTGGCGTTGTCTCCTGT
GCCCAGCCACTGGATGGTGGCGTTGCTGCTGCTGCTCTCAGCTGAGCCAGTACCAGCAGC
CAGATCGGAGGACCGGTACCGGAATCCCAAAGGTAGTGCTTGTTCGCGGATCTGGCAGAG
CCCACGTTTCATAGCCAGGAAACGGGGCTTCACGGTGAAAATGCACTGCTACATGAACAG
CGCCTCCGGCAATGTGAGCTGGCTCTGGAAGCAGGAGATGGACGAGAATCCCCAGCAGCT
GAAGCTGGAAAAGGGCCGCATGGAAGAGTCCCAGAACGAATCTCTCGCCACCCTCACCAT
CCAAGGCATCCGGTTTGAGGACAATGGCATCTACTTCTGTCAGCAGAAGTGCAACAACAC
CTCGGAGGTCTACCAGGGCTGCGGCACAGAGCTGCGAGTCATGGGATTCAGCACCTTGGC
ACAGCTGAAGCAGAGGAACACGCTGAAGGATGGTATCATCATGATCCAGACGCTGCTGAT
CATCCTCTTCATCATCGTGCCTATCTTCCTGCTGCTGGACAAGGATGACAGCAAGGCTGG
CATGGAGGAAGATCACACCTACGAGGGCCTGGACATTGACCAGACAGCCACCTATGAGGA
CATAGTGACGCTGCGGACAGGGGAAGTGAAGTGGTCTGTAGGTGAGCACCCAGGCCAGGA
G**TGA**GAGCCAGGTCGCCCCATGACCTGGGTGCAGGCTCCCTGGCCTCAGTGACTGCTTCG
GAGCTGCCTGGCTCATGGCCCAACCCCTTTCCTGGACCCCCCAGCTGGCCTCTGAAGCTG
GCCCACCAGAGCTGCCATTTGTCTCCAGCCCCTGGTCCCCAGCTCTTGCCAAAGGGCCTG
GAGTAGAAGGACAACAGGGCAGCAACTTGGAGGGAGTTCTCTGGGGATGGACGGGACCCA
GCCTTCTGGGGGTGCTATGAGGTGATCCGTCCCCACACATGGGATGGGGGAGGCAGAGAC
TGGTCCAGAGCCCGCAAATGGACTCGGAGCCGAGGGCCTCCCAGCAGAGCTTGGGAAGGG
CCATGGACCCAACTGGGCCCCAGAAGAGCCACAGGAACATCATTCCTCTCCCGCAACCAC
TCCCACCCCAGGGAGGCCCTGGCCTCCAGTGCCTTCCCCCGTGGAATAAACGGTGTGTCC
TGAGAAACCA

圖1

發明專利說明書

（本說明書格式、順序，請勿任意更動）

【發明名稱】

抗-CD79B抗體及免疫共軛物及使用方法

ANTI-CD79B ANTIBODIES AND IMMUNOCONJUGATES AND METHODS OF USE

【技術領域】

本發明係針對適用於治療哺乳動物之造血腫瘤之物質組合物及使用彼等物質組合物來治療該造血腫瘤之方法。

相關申請案之交叉參考

根據37 CFR §1.53(b)申請之此非臨時申請案主張根據35 USC §119(e)於2008年1月31日申請之美國臨時申請案第61/025,137號、於2008年2月29日申請之美國臨時申請案第61/032,790號及於2008年5月20日申請之美國臨時申請案第61/054,709號的權益，該等臨時申請案各自以全文引用之方式併入本文中。

【先前技術】

惡性腫瘤(癌症)係在美國繼心臟病後之第二位主要死亡原因(Boring等人，*CA Cancel J. Clin.* 43:7 (1993))。癌症之特徵為源自於正常組織且發生增生形成腫瘤塊之異常或贅生性細胞的數目之增加、此等贅生性腫瘤細胞對相鄰組織之侵入及最終經由血液或淋巴系統擴散至區域淋巴結且經由稱為癌轉移之過程擴散至遠處部位之惡性細胞的產生。在癌性狀態下，細胞在正常細胞不會生長之條件下發生增生。癌症自身以各種形式表現，其特徵為不同程度之侵入性及侵襲性。

涉及在血細胞生成(亦即，一種產生諸如淋巴細胞、白血球、血

小板、紅血球及自然殺手細胞之血液細胞要素的過程)期間產生之細胞的癌症被稱為造血癌。可見於血液及淋巴組織中且對於免疫反應至關重要之淋巴細胞被分類為兩個主要淋巴細胞類別：B淋巴細胞(B細胞)及T淋巴細胞(T細胞)，其分別介導體液及細胞免疫。

B細胞在骨髓內成熟且離開骨髓，從而於其細胞表面上表現抗原結合抗體。當初始B細胞初次遇到抗原(該細胞之膜結合抗體對其具特異性)時，該細胞開始快速分裂且其子代分化為記憶B細胞及稱為"漿細胞"之效應細胞。記憶B細胞具有較長壽命且繼續以與原始母細胞相同之特異性表現膜結合抗體。漿細胞並不產生膜結合抗體，而是產生可分泌形式之抗體。分泌性抗體為體液免疫之主要效應分子。

T細胞在為未成熟T細胞增生及分化提供環境之胸腺內成熟。在T細胞成熟期間，T細胞經受產生T細胞受體之基因重排及可幫助確定成熟T細胞之細胞表面表型之陽性與陰性選擇。成熟T細胞之特徵細胞表面標記為CD3:T細胞受體複合物及輔受體CD4或CD8中之一者。

在旨在發現癌症療法之有效細胞靶的嘗試中，研究人員已設法鑑別與於一或多種正常非癌細胞上相比於一或多種特定類型之癌細胞之表面上特異性表現的跨膜或者膜相關多肽。與於非癌細胞之表面上相比，該等膜相關多肽常常更大量地表現於癌細胞之表面上。該等腫瘤相關細胞表面抗原多肽之鑑別已產生特異性靶向癌細胞以經由基於抗體之療法將其破壞的能力。就此而言，應注意基於抗體之療法已證明對於治療某些癌症非常有效。舉例而言，HERCEPTIN®及RITUXAN®(兩者皆來自Genentech Inc., South San Francisco, California)為分別已成功地用於治療乳腺癌及非霍奇金氏淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma)之抗體。更具體而言，HERCEPTIN®為重組DNA源性人類化單株抗體，其選擇性結合至人類表皮生長因子受體2(HER2)原癌基因之細胞外域。在25-30%之原發性乳腺癌中觀察到

HER2蛋白質過表現。RITUXAN®為針對存在於正常及惡性B淋巴細胞之表面上之CD20抗原的遺傳工程化嵌合鼠類/人類單株抗體。此等抗體皆於CHO細胞中重組產生。

在旨在發現癌症療法之有效細胞靶的其他嘗試中，研究人員已設法鑑別(1)與由一或多種特定類型之非癌性正常細胞相比，由一或多種特定類型之癌細胞特異性產生的非膜相關多肽；(2)由癌細胞以顯著高於一或多種正常非癌細胞之表現量產生的多肽；或(3)表現明確地僅限於癌性及非癌性狀態下之單一(或極其有限數目之不同)組織類型(例如正常前列腺及前列腺腫瘤組織)的多肽。該等多肽可保持位於細胞內或可由癌細胞分泌。此外，該等多肽可能並非由癌細胞自身表現，而是由產生及/或分泌對癌細胞具有增強或促生長效應之多肽之細胞表現。該等分泌性多肽常常為提供給癌細胞超過正常細胞之生長優勢且包括諸如血管生成因子、細胞黏附因子、生長因子及其類似物之物質的蛋白質。將預期鑑別該等非膜相關多肽之拮抗劑可用作治療該等癌症之有效治療劑。此外，鑑別該等多肽之表現模式將適用於診斷哺乳動物之特定癌症。

儘管哺乳動物癌症療法已取得上述確定之進步，但極其需要分別能夠偵測哺乳動物中腫瘤之存在及有效抑制贅生性細胞生長的其他治療劑。因此，本發明之一目的在於鑑別表現明確地僅限於癌性及非癌性狀態下之單一(或極其有限數目之不同)組織類型(亦即造血組織)的多肽(亦即細胞膜相關、分泌性或細胞內多肽)，且在於使用彼等多肽及其編碼核酸來製備適用於哺乳動物之造血癌之治療性治療及/或偵測的物質組合物。

CD79為由含有CD79a(Igα，mb-1)及CD79b(Igβ，B29)之共價異質二聚體組成之B細胞受體的信號轉導組分。CD79a及CD79b各自含有細胞外免疫球蛋白(Ig)域、跨膜域及細胞內信號轉導域、基於免疫受

體酪胺酸之活化基元(ITAM)域。CD79係於B細胞上及於非霍奇金氏淋巴瘤細胞(NHL)中被表現(Cabezudo等人，*Haematologica,* 84:413-418 (1999)；D'Arena等人，*Am. J. Hematol.,* 64: 275-281 (2000)；Olejniczak等人，*Immunol. Invest.,* 35: 93-114 (2006))。CD79a及CD79b及sIg均為CD79之表面表現所需(Matsuuchi等人，*Curr. Opin. Immunol.,* 13(3): 270-7)。CD79b於NHL上之平均表面表現類似於於正常B細胞上之表現，但範圍更大(Matsuuchi等人，*Curr. Opin. Immunol.,* 13(3): 270-7 (2001))。

假定表現CD79b，則有益於產生CD79b抗原之治療性抗體，其在投與患者，尤其用於慢性治療時，形成最小抗原性或無抗原性。本發明滿足此需要及其他需要。本發明提供可克服當前治療性組合物之侷限性以及提供根據下文詳細描述將顯而易見之其他優點的抗-CD79b抗體。

在治療癌症中使用抗體-藥物共軛物(ADC)(亦即免疫共軛物)局部傳遞細胞毒性劑或細胞抑制劑(亦即用於殺死或抑制腫瘤細胞之藥物)(Lambert, J. (2005) Curr. Opinion in Pharmacology 5:543-549; Wu等人(2005) Nature Biotechnology 23(9):1137-1146；Payne, G. (2003) Cancer Cell 3:207-212；Syrigos及Epenetos (1999) Anticancer Research 19:605-614；Niculescu-Duvaz及Springer (1997) Adv. Drug Del. Rev. 26:151-172；US 4975278)允許將藥物部分靶向傳遞至腫瘤，及於其中細胞內積累，其中全身性投與此等非共軛藥物藥劑可能會導致正常細胞不可接受之毒性水平以及尋求除去之腫瘤細胞(Baldwin等人(1986) Lancet 頁數(1986年3月15日):603-05；Thorpe, (1985) "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review," in Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications, A. Pinchera等人(編)，第475-506頁)。對改善治療指數(亦即ADC之最大

功效及最小毒性)之努力已集中於對於多株抗體(Rowland等人(1986) Cancer Immunol. Immunother., 21:183-87)及單株抗體(mAb)之選擇性以及藥物連接及藥物釋放特性(Lambert, J. (2005) Curr. Opinion in Pharmacology 5:543-549)。用於抗體藥物共軛物中之藥物部分包括細菌蛋白質毒素，諸如白喉毒素；植物蛋白質毒素，諸如篦麻毒素；小分子，諸如奧瑞他汀(auristatin)、格爾德黴素(geldanamycin)(Mandler等人(2000) J. of the Nat. Cancer Inst. 92(19):1573-1581；Mandler等人(2000) Bioorganic & Med. Chem. Letters 10:1025-1028；Mandler等人(2002) Bioconjugate Chem. 13:786-791)、美登素類(maytansinoid)(EP 1391213；Liu等人(1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:8618-8623)、卡奇黴素(calicheamicin)(Lode等人(1998) Cancer Res. 58:2928; Hinman等人(1993) Cancer Res. 53:3336-3342)、道諾黴素(daunomycin)、羥道諾紅黴素(doxorubicin)、甲胺喋呤(methotrexate)及長春地辛(vindesine)(Rowland等人(1986)，見上)。藥物部分可能影響細胞毒性及細胞抑制機制，包括微管蛋白結合、DNA結合或拓撲異構酶抑制。一些細胞毒性藥物在與大抗體或蛋白質受體配位體共軛時傾向於無活性或活性較小。

奧瑞他汀肽、奧瑞他汀E(AE)及單甲基奧瑞他汀(MMAE)、海兔毒素(dolastatin)之合成類似物(WO 02/088172)已作為藥物部分與下列各物共軛：(i)嵌合單株抗體cBR96(對癌瘤上之路易斯Y(Lewis Y)具特異性)；(ii)cAC10，其對血液惡性腫瘤上之CD30具特異性(Klussman, 等人(2004), Bioconjugate Chemistry 15(4):765-773；Doronina等人(2003) Nature Biotechnology 21(7):778-784；Francisco等人(2003) Blood 102(4):1458-1465；US 2004/0018194)；(iii)用於治療CD20表現癌症及免疫病症之抗-CD20抗體，諸如美羅華(rituxan)(WO 04/032828)；(iv)用於治療結腸直腸癌之抗-EphB2R抗體2H9(Mao等人

(2004) Cancer Research 64(3):781-788)；(v)E-選擇素抗體(Bhaskar等人 (2003) Cancer Res. 63:6387-6394)；(vi)曲妥珠單抗(trastuzumab)(HERCEPTIN®，US 2005/0238649)；及(vii)抗-CD30抗體(WO 03/043583)。奧瑞他汀E之變異體係於US 5767237及US 6124431中揭示。與單株抗體共軛之單甲基奧瑞他汀E係於2004年3月28日提出之Senter等人，Proceedings of the American Association for Cancer Research，第45卷，摘要號碼623中揭示。奧瑞他汀類似物MMAE及MMAF已與各種抗體共軛(US 2005/0238649)。

將藥物部分連接(亦即經由共價鍵連接)於抗體之習知方式一般產生分子之異質混合物，其中該等藥物部分連接於該抗體上之若干位點處。舉例而言，細胞毒性藥物通常經由抗體之往往許多離胺酸殘基與抗體共軛，從而產生異質抗體-藥物共軛物混合物。視反應條件而定，該異質混合物通常含有具有0至約8個或更多個連接藥物部分之抗體之分布。另外，具有特定整數比率之藥物部分與抗體之共軛物的各亞群為潛在異質混合物，其中藥物部分連接於抗體上之各位點處。分析及製備方法可能不足以分離及表徵由共軛反應產生之異質混合物中之抗體-藥物共軛物物質分子。抗體為大、複雜且結構不同之生物分子，常常具有許多反應性官能基。其與連接子試劑及藥物-連接子中間物之反應性視諸如pH值、濃度、鹽濃度及共溶劑之因素而定。此外，由於難以控制反應條件及表徵反應物與中間物，所以多步驟共軛方法可能為不可再現的。

半胱胺酸硫醇在中性pH值下具反應性，此不同於經質子化且在pH 7附近親核性較小之大多數胺。因為游離硫醇(RSH，硫氫基)基團具相對反應性，所以具有半胱胺酸殘基之蛋白質常常以其氧化形式作為二硫鍵連接之寡聚物存在或內部具有橋式二硫基。細胞外蛋白質一般不具有游離硫醇(Garman, 1997, Non-Radioactive Labelling: A

Practical Approach, Academic Press, London，第55頁)。抗體半胱胺酸硫醇基團對親電子共軛試劑之反應性一般比抗體胺或羥基基團對親電子共軛試劑之反應性大，亦即親核性較大。已藉由遺傳工程化技術將半胱胺酸殘基引入蛋白質中以形成與配位體之共價連接或形成新分子內二硫鍵(Better等人(1994) J. Biol. Chem. 13:9644-9650；Bernhard等人(1994) Bioconjugate Chem. 5:126-132；Greenwood等人(1994) Therapeutic Immunology 1:247-255；Tu等人(1999) Proc. Natl. Acad. Sci USA 96:4862-4867；Kanno等人(2000) J. of Biotechnology, 76:207-214；Chmura等人(2001) Proc. Nat. Acad. Sci. USA 98(15):8480-8484；US 6248564)。然而，藉由使蛋白質之各種胺基酸殘基突變為半胱胺酸胺基酸進行的半胱胺酸硫醇基之工程化具有潛在問題，在不成對(游離Cys)殘基或相對易受反應或氧化影響之彼等者的情況下尤然。在蛋白質之濃溶液中，無論在大腸桿菌(E. coli)周質、培養物上清液抑或部分或完全純化蛋白質中，蛋白質表面上之不成對Cys殘基可配對且發生氧化以形成分子間二硫鍵，且因此形成蛋白質二聚體或多聚體。二硫化物二聚體形成使得新Cys對於與藥物、配位體或其他標記之共軛不具反應性。此外，若蛋白質氧化形成新工程化Cys與現有Cys殘基之間的分子內二硫鍵，則兩種Cys硫醇基無法用於活性位點參與及相互作用。此外，可藉由三級結構之錯誤摺疊或失去而使得蛋白質無活性或無特異性(Zhang等人(2002) Anal. Biochem. 311:1-9)。

半胱胺酸工程化抗體已被設計為FAB抗體片段(thioFab)且表現為全長IgG單株(thioMab)抗體(Junutula, J.R.等人(2008) J Immunol Methods 332:41-52；US 2007/0092940，該等文獻之內容以引用的方式併入)。ThioFab及ThioMab抗體於新引入之半胱胺酸硫醇處經由連接子與硫醇反應性連接子試劑及藥物-連接子試劑共軛以製備抗體藥物共軛物(Thio ADC)。

本文中所引用之所有參考文獻，包括專利申請案及公開案均以全文引用的方式併入。

【發明內容】

本發明提供抗-CD79b抗體或其功能片段，及其用於治療造血腫瘤之方法。

在一態樣中，本發明提供一種抗體，其(較佳特異性地)結合至上文或下文所述之多肽中之任一者。視情況，該抗體為單株抗體、抗體片段(包括Fab、Fab'、$F(ab')_2$及Fv片段)、雙功能抗體、單域抗體、嵌合抗體、人類化抗體、單鏈抗體或競爭性抑制抗-CD79b多肽抗體與其各別抗原性抗原決定基之結合之抗體。本發明之抗體可視情況與生長抑制劑或細胞毒性劑共軛，該生長抑制劑或細胞毒性劑諸如毒素，包括(例如)奧瑞他汀、美登素類、海兔毒素衍生物或卡奇黴素、抗生素、放射性同位素、溶核酶或其類似物。本發明之抗體可視情況於CHO細胞或細菌細胞中產生且較佳引起其所結合之細胞死亡。出於偵測目的，本發明之抗體可以可偵測方式標記、連接於固體支撐物或其類似情況。

在一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中抗體對CD79b之單價親和力(例如呈Fab片段之抗體對CD79b之親和力)或其二價形式之親和力(例如呈IgG片段之抗體對CD79b之親和力)分別大體上與鼠類抗體(例如呈Fab片段或呈IgG片段之鼠類抗體對CD79b之親和力)或嵌合抗體(例如呈Fab片段或呈IgG片段之嵌合抗體對CD79b之親和力)之單價親和力或其二價形式之親和力相同，低於或大於後者，該鼠類抗體或嵌合抗體包含如圖7A-B(SEQ ID NO: 10)及圖8A-B(SEQ ID NO: 14)中所示之輕鏈及重鏈可變域序列、由該輕鏈及重鏈可變域序列組成或基本上由該輕鏈及重鏈可變域序列組成。

在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二

價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)為0.4 nM、0.2 nM或0.5 nM。

在一態樣中，提供一種結合CD79b之抗體，其中該抗體包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自由下列者組成之群的HVR：

(i)包含序列A1-A15之HVR-L1，其中A1-A15為KASQSVDYDGDSFLN(SEQ ID NO: 131)；

(ii)包含序列B1-B7之HVR-L2，其中B1-B7為AASNLES (SEQ ID NO: 132)；

(iii)包含序列C1-C9之HVR-L3，其中C1-C9為QQSNEDPLT (SEQ ID NO: 133)；

(iv)包含序列D1-D10之HVR-H1，其中D1-D10為GYTFSSYWIE (SEQ ID NO: 134)；

(v)包含序列E1-E18之HVR-H2，其中E1-E18為GEILPGGGDTNYNEIFKG(SEQ ID NO: 135)；及

(vi)包含序列F1-F10之HVR-H3，其中F1-F10為TRRVPVYFDY(SEQ ID NO: 136)。

在一態樣中，提供一種結合CD79b之抗體，其中該抗體包含至少一個變異HVR，其中該變異HVR序列包含對SEQ ID NO: 131、132、133、134、135或136中所示之序列之至少一個殘基的修飾。

在一態樣中，本發明提供一種抗體，其包含含有圖15中所示之HVR1-HC、HVR2-HC及/或HVR3-HC序列(SEQ ID NO: 164-166)之重鏈可變域。

在一態樣中，本發明提供一種抗體，其包含含有圖15中所示之HVR1-LC、HVR2-LC及/或HVR3-LC序列(SEQ ID NO: 156-158)之輕鏈可變域。

在一態樣中，本發明提供一種抗體，其包含含有圖16中所示之HVR1-HC、HVR2-HC及/或HVR3-HC序列(SEQ ID NO: 183-185)之重鏈可變域。

在一態樣中，本發明提供一種抗體，其包含含有圖16中所示之HVR1-LC、HVR2-LC及/或HVR3-LC序列(SEQ ID NO: 175-177)之輕鏈可變域。

在一態樣中，本發明提供一種抗體，其包含含有圖17中所示之HVR1-HC、HVR2-HC及/或HVR3-HC序列(SEQ ID NO: 202-204)之重鏈可變域。

在一態樣中，本發明提供一種抗體，其包含含有圖17中所示之HVR1-LC、HVR2-LC及/或HVR3-LC序列(SEQ ID NO: 194-196)之輕鏈可變域。

在一態樣中，本發明提供一種抗體，其包含含有圖18中所示之HVR1-HC、HVR2-HC及/或HVR3-HC序列(SEQ ID NO: 221-223)之重鏈可變域。

在一態樣中，本發明提供一種抗體，其包含含有圖18中所示之HVR1-LC、HVR2-LC及/或HVR3-LC序列(SEQ ID NO: 213-215)之輕鏈可變域。

在一態樣中，本發明包括一種抗-CD79b抗體，其包含選自SEQ ID NO: 170、189、208或227之重鏈可變域。在另一態樣中，本發明包括一種抗-CD79b抗體，其包含選自SEQ ID NO: 169、188、207或226之輕鏈可變域。

在一態樣中，本發明包括一種半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體，其包含一或多個游離半胱胺酸胺基酸及選自SEQ ID NO: 251-298之序列。該半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體可結合於CD79b多肽。該半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體可藉由包含由半胱胺酸置換親本抗-CD79b抗

體之一或多個胺基酸殘基之方法來製備。

在一態樣中，本發明包括一種包含一或多個游離半胱胺酸胺基酸之半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體，其中該半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體結合於CD79b多肽且係藉由包含由半胱胺酸置換親本抗-CD79b抗體之一或多個胺基酸殘基之方法來製備，其中該親本抗體包含至少一個選自下列者之HVR序列：

(a)包含序列A1-A15之HVR-L1，其中A1-A15為KASQSVDYDGDSFLN(SEQ ID NO: 131)或KASQSVDYEGDSFLN(SEQ ID NO: 137)；

(b)包含序列B1-B7之HVR-L2，其中B1-B7為AASNLES (SEQ ID NO: 132)；

(c)包含序列C1-C9之HVR-L3，其中C1-C9為QQSNEDPLT(SEQ ID NO: 133)；

(d)包含序列D1-D10之HVR-H1，其中D1-D10為GYTFSSYWIE(SEQ ID NO: 134)；

(e)包含序列E1-E18之HVR-H2，其中E1-E18為GEILPGGGDTNYNEIFKG(SEQ ID NO: 135)；及

(f)包含序列F1-F10之HVR-H3，其中F1-F10為TRRVPVYFDY(SEQ ID NO: 136)或TRRVPIRLDY (SEQ ID NO: 138)。

半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體可為單株抗體、抗體片段、嵌合抗體、人類化抗體、單鏈抗體或競爭性抑制抗-CD79b多肽抗體與其各別抗原性抗原決定基之結合之抗體。本發明之抗體可視情況與生長抑制劑或細胞毒性劑共軛，該生長抑制劑或細胞毒性劑諸如毒素，包括(例如)奧瑞他汀或美登素類。本發明之抗體可視情況於CHO細胞或細菌細胞中產生且較佳抑制其所結合之細胞之生長或增生或引起其所結合之細胞死亡。出於診斷目的，本發明之抗體可以可偵測方式標

記、連接於固體支撐物或其類似情況。

在一態樣中，本發明提供製造本發明之抗體之方法。舉例而言，本發明提供一種製造CD79b抗體(如本文所定義，其包括全長及其片段)之方法，該方法包含使本發明之編碼該抗體(或其片段)之重組載體表現於合適之宿主細胞中及回收該抗體。

在一態樣中，本發明為一種醫藥調配物，其包含本發明之抗體或本發明之抗體-藥物共軛物及醫藥學上可接受之稀釋劑、載劑或賦形劑。

在一態樣中，本發明提供一種製品，其包含一容器；及含於該容器中之組合物，其中該組合物包含本發明之一或多種CD79b抗體。

在一態樣中，本發明提供一種套組，其包含一第一容器，其包含含有本發明之一或多種CD79b抗體之組合物；及一第二容器，其包含緩衝劑。

在一態樣中，本發明提供本發明之CD79b抗體用於製備用以治療性及/或預防性治療疾病(諸如癌症、腫瘤及/或細胞增生性病症)之藥劑的用途。

在一態樣中，本發明提供本發明之製品用於製備用以治療性及/或預防性治療疾病(諸如癌症、腫瘤及/或細胞增生性病症)之藥劑的用途。

在一態樣中，本發明提供本發明之套組用於製備用以治療性及/或預防性治療疾病(諸如癌症、腫瘤及/或細胞增生性病症)之藥劑的用途。

在一態樣中，本發明提供一種抑制表現CD79b之細胞生長之方法，該方法包含使該細胞與本發明之抗體接觸，藉此使得該細胞之生長受到抑制。在一實施例中，該抗體與細胞毒性劑共軛。在一實施例中，該抗體與生長抑制劑共軛。

在一態樣中，本發明提供一種治療性地治療具有包含表現CD79b之細胞之癌性腫瘤的哺乳動物之方法，該方法包含向該哺乳動物投與治療有效量之本發明之抗體，藉此有效治療該哺乳動物。在一實施例中，該抗體與細胞毒性劑共軛。在一實施例中，該抗體與生長抑制劑共軛。

在一態樣中，本發明提供一種治療或預防與CD79b之表現增加相關之細胞增生性病症的方法，該方法包含向需要該治療之個體投與有效量之本發明之抗體，藉此有效治療或預防該細胞增生性病症。在一實施例中，該增生性病症為癌症。在一實施例中，該抗體與細胞毒性劑共軛。在一實施例中，該抗體與生長抑制劑共軛。

在一態樣中，本發明提供一種抑制細胞生長之方法，其中該細胞之生長至少部分視CD79b之生長增強作用而定，該方法包含使該細胞與有效量之本發明之抗體接觸，藉此抑制該細胞之生長。在一實施例中，該抗體與細胞毒性劑共軛。在一實施例中，該抗體與生長抑制劑共軛。

在一態樣中，本發明提供一種治療性地治療哺乳動物之腫瘤之方法，其中該腫瘤之生長至少部分視CD79b之生長增強作用而定，該方法包含使該細胞與有效量之本發明之抗體接觸，藉此有效治療該腫瘤。在一實施例中，該抗體與細胞毒性劑共軛。在一實施例中，該抗體與生長抑制劑共軛。

在一態樣中，本發明提供一種治療癌症之方法，其包含向患者投與包含本文所述之免疫共軛物、可接受之稀釋劑、載劑或賦形劑的醫藥調配物。

在一態樣中，本發明提供一種抑制B細胞增生之方法，其包含使細胞在容許免疫共軛物與CD79b結合之條件下暴露於包含本發明之抗體之免疫共軛物。

在一態樣中，本發明提供一種測定懷疑含有CD79b之樣品中CD79b之存在的方法，該方法包含使該樣品暴露於本發明之抗體，及測定該抗體與該樣品中之CD79b之結合，其中該抗體與該樣品中之CD79b之結合指示該樣品中存在該蛋白質。

在一態樣中，本發明提供一種診斷與表現CD79b之細胞(諸如B細胞)增加相關之細胞增生性病症的方法，該方法包含使生物樣品中之測試細胞與上述抗體中之任一者接觸；藉由偵測該抗體與CD79b之結合來測定結合於該樣品中之測試細胞的抗體之含量；及比較結合於對照樣品中之細胞的抗體之含量，其中將所結合之抗體之含量標準化為測試樣品及對照樣品中表現CD79b之細胞之數目，且其中與對照樣品相比測試樣品中結合之抗體的含量較高指示與表現CD79b之細胞相關之細胞增生性病症的存在。

在一態樣中，本發明提供一種偵測血液或血清中之可溶性CD79b之方法，該方法包含使來自懷疑經歷B細胞增生性病症之哺乳動物之血液或血清的測試樣品與本發明之抗-CD79b抗體接觸且偵測測試樣品中之可溶性CD79b相對於來自正常哺乳動物之血液或血清之對照樣品的增加。

在一態樣中，本發明提供一種使本發明之抗體結合於表現CD79b之細胞的方法，該方法包含使該細胞與本發明之抗體接觸。在一實施例中，該抗體與細胞毒性劑共軛。在一實施例中，該抗體與生長抑制劑共軛。

【圖式簡單說明】

圖1展示PRO36249 cDNA之核苷酸序列(SEQ ID NO: 1)，其中SEQ ID NO: 1為本文中指定為"DNA225786"之純系(本文中亦稱為"CD79b")。該核苷酸序列編碼CD79b，其中起始及終止密碼子以粗體顯示且加下劃線。

圖2展示源自圖1中所示之SEQ ID NO: 1之編碼序列的胺基酸序列(SEQ ID NO: 2)。

圖3展示嵌合CD79b鼠類抗體(chMA79b)IgG1(MA79b為鼠類單株抗-CD79b抗體)之輕鏈之核苷酸序列(SEQ ID NO: 3)。該核苷酸序列編碼chMA79b之輕鏈，其中起始及終止密碼子以粗體顯示且加下劃線。

圖4展示源自圖3中所示之SEQ ID NO: 3之編碼序列且缺失頭18個胺基酸信號序列的胺基酸序列(SEQ ID NO: 4)。可變區為未加下劃線之區域。

圖5展示嵌合鼠類抗體(chMA79b)IgG1(MA79b為鼠類單株抗-CD79b抗體)之重鏈之核苷酸序列(SEQ ID NO: 5)。該核苷酸序列編碼chMA79b之重鏈，其中起始及終止密碼子以粗體顯示且加下劃線。

圖6展示源自圖5中所示之SEQ ID NO: 5之編碼序列且缺失頭18個胺基酸信號序列及終止密碼子之前之最後離胺酸(K)的胺基酸序列(SEQ ID NO: 6)。可變區為未加下劃線之區域。

圖7A-B展示下列者之可變輕鏈之序列的比對：具有VL-FR1、VL-FR2、VL-FR3、VL-FR4(分別為SEQ ID NO: 139-142)之輕鏈人類κ I一致序列(標為"huKI"；SEQ ID NO: 9)、鼠類抗-CD79b抗體(標為"MA79b"；SEQ ID NO: 10)、MA79b接枝"人類化"抗體(標為"huMA79b接枝物"；SEQ ID NO: 11)、MA79b接枝"人類化"抗體變異體17(標為"huMA79b.v17"；SEQ ID NO: 169)、MA79b接枝"人類化"抗體變異體18(標為"huMA79b.v18"；SEQ ID NO: 188)、MA79b接枝"人類化"抗體變異體28(標為"huMA79b.v28"；SEQ ID NO: 207)及MA79b接枝"人類化"抗體變異體32(標為"huMA79b.v32"；SEQ ID NO: 226)。根據Kabat對位置進行編號且將自MA79b接枝於可變輕鏈κ I一致構架之高變區(HVR)加框。

圖8A-B展示下列者之可變重鏈之序列的比對：具有VH-FR1、VH-FR2、VH-FR3及VH-FR4(SEQ ID NO: 143-146)之重鏈人類亞群III一致序列(標為"humIII"；SEQ ID NO: 13)、鼠類抗-CD79b抗體(標為"MA79b"；SEQ ID NO: 14)、MA79b接枝"人類化"抗體(標為"huMA79b接枝物"；SEQ ID NO: 15)(含有71A、73T及78A)、MA79b接枝"人類化"抗體變異體17(標為"huMA79b.v17"；SEQ ID NO: 170)(含有71A、73T及78A)、MA79b接枝"人類化"抗體變異體18(標為"huMA79b.v18"；SEQ ID NO: 189)(含有71A、73T及78A)、MA79b接枝"人類化"抗體變異體28(標為"huMA79b.v28"；SEQ ID NO: 208)(含有71A、73T及78A)及MA79b接枝"人類化"抗體變異體32(標為"huMA79b.v32"；SEQ ID NO: 227)(含有71A、73T及78A)。根據Kabat對位置進行編號且將自MA79b接枝於可變重鏈亞群III一致構架之高變區(HVR)加框。

圖9展示所選MA79b接枝"人類化"抗體變異體之各個HVR序列(SEQ ID NO: 17-21)，其中各變異體於MA79b接枝"人類化"抗體之單一HVR(HVR-L1(SEQ ID NO: 131)；HVR-L2(SEQ ID NO: 132)；HVR-L3(SEQ ID NO: 133))中具有單一胺基酸變化。所示單一胺基酸變化外之可變輕鏈及可變重鏈之序列與huMA79b接枝物一致且未圖示。未觀察到MA79b接枝"人類化"抗體之HVR-H1(SEQ ID NO: 134)、HVR-H2(SEQ ID NO: 135)或HVR-H3(SEQ ID NO: 136)之變化。

圖10展示包括huMA79b L2-2(本文中亦稱為"L2")、huMA79b H3-10(本文中亦稱為"H3")之所選MA79b接枝"人類化"抗體變異體之各個HVR序列(SEQ ID NO: 22-106)，其中各變異體於MA79b接枝"人類化"抗體之單一HVR區域(HVR-L2(SEQ ID NO: 132)；HVR-L3(SEQ ID NO: 133)；HVR-H1(SEQ ID NO: 134)；HVR-H3(SEQ ID NO: 136)之部分在圖10中以SEQ ID NO: 107展示)中具有多個胺基酸變化。所示

胺基酸變化外之可變輕鏈及可變重鏈之序列與huMA79b接枝物一致且未圖示。未觀察到MA79b接枝"人類化"抗體之HVR-L1(SEQ ID NO: 131)或HVR-H2(SEQ ID NO: 135)之變化。

圖11展示對包括鼠類CD79b抗體(標為"MA79b")、MA79b接枝"人類化"抗體(標為"huMA79b接枝物")及MA79b接枝"人類化"抗體變異體(包括huMA79b L2-2(52R、53K、55G、56R；SEQ ID NO: 22)、huMA79b H3-10(98I、99R、100L；SEQ ID NO: 94)、huMA79b H1-6(28P、30T、31R、35N；SEQ ID NO: 57)及huMA79b L2/H3(下文所述之L2-2及H3-10突變))之所選抗-CD79b抗體與包括人類CD79b之細胞外域(huCD79b$_{ecd}$)、與Fc融合之人類CD79b之細胞外域(huCD79b$_{ecd}$-Fc)及含有MA79b及chMA79b之抗原決定基的16個胺基酸之肽(SEQ ID NO: 16)的指定抗原之Biacore分析結果。

圖12展示對所選抗-CD79b抗體(包括MA79b接枝"人類化"抗體(標為"huMA79b接枝物")及MA79b接枝"人類化"抗體變異體(在第一行中標為1-34或在第一行中標為"所有構架"))與人類CD79b之細胞外域(huCD79b-ecd抗原)的Biacore分析結果。MA79b接枝"人類化"抗體變異體包括存在潛在重要之鼠類構架殘基的"所有構架"變異體及具有構架突變之組合且在可變輕鏈與可變重鏈中有或無HVR突變(如所指定)之變異體(標為1-34)。MA79b接枝"人類化"抗體變異體17(本文中稱為"huMA79b.v17")在第一行中被標為17，MA79b接枝"人類化"抗體變異體18(本文中稱為"huMA79b.v18")在第一行中被標為18，MA79b接枝"人類化"抗體變異體28(本文中稱為"huMA79b.v28")在第一行中被標為28且MA79b接枝"人類化"抗體變異體32(本文中稱為"huMA79b.v32")在第一行中被標為32。二價結合倍數係以特定MA79b接枝"人類化"抗體變異體之Kd(標為"Kd$_{變異體}$")/嵌合MA79b抗體(chMA79b)之Kd(標為"Kd$_{嵌合體}$")表示；標識為"二價結合倍數"之行下之值表示Kd$_{變異體}$/Kd$_{嵌合}$

。在圖中未偵測到之結合以"NDB"表示。

圖13A-B(可變重鏈(VH)一致構架)及圖14(可變輕鏈(VL)一致構架)展示具有如下序列識別符之用於實施本發明之例示性受體人類一致構架序列：(圖13A-B)缺失Kabat CDR之人類VH亞群I一致構架(SEQ ID NO: 108)、缺失延伸高變區之人類VH亞群I一致構架(SEQ ID NO: 109-111)、缺失Kabat CDR之人類VH亞群II一致構架(SEQ ID NO: 112)、缺失延伸高變區之人類VH亞群II一致構架(SEQ ID NO: 113-115)、缺失Kabat CDR之人類VH亞群III一致構架(SEQ ID NO: 116)、缺失延伸高變區之人類VH亞群III一致構架(SEQ ID NO: 117-119)、缺失Kabat CDR之人類VH受體構架(SEQ ID NO: 120)、缺失延伸高變區之人類VH受體構架(SEQ ID NO: 121-122)、缺失Kabat CDR之人類VH受體2構架(SEQ ID NO: 123)及缺失延伸高變區之人類VH受體2構架(SEQ ID NO: 124-126)以及(圖14)人類VL κ亞群I一致構架(SEQ ID NO: 127)、人類VL κ亞群II一致構架(SEQ ID NO: 128)、人類κ亞群III一致構架(SEQ ID NO: 129)及人類κ亞群IV一致構架(SEQ ID NO: 130)。

圖15A(輕鏈)及15B(重鏈)展示本發明之抗體(huMA79b.v17)之胺基酸序列。圖15A(輕鏈)及15B(重鏈)展示本發明之抗體(huMA79b.v17)之一實施例的構架(FR)、高變區(HVR)、第一恆定域(CL或CH1)及Fc區(Fc)之胺基酸序列(SEQ ID NO: 152-159(圖15A)及SEQ ID NO: 160-168(圖15B))。分別展示huMA79b.v17之輕鏈及重鏈之全長胺基酸序列(可變區及恆定區)(SEQ ID NO: 303(圖15A)及304(圖15B))，其中將恆定域加下劃線。展示可變域之胺基酸序列(SEQ ID NO: 169(圖15A為輕鏈)及SEQ ID NO: 170(圖15B為重鏈))。

圖16A(輕鏈)及16B(重鏈)展示本發明之抗體(huMA79b.v18)之胺基酸序列。圖16A(輕鏈)及16B(重鏈)展示本發明之抗體(huMA79b.v18)之一實施例的構架(FR)、高變區(HVR)、第一恆定域

(CL或CH1)及Fc區(Fc)之胺基酸序列(SEQ ID NO: 171-178(圖16A)及SEQ ID NO: 179-187(圖16B))。分別展示huMA79b.v18之輕鏈及重鏈之全長胺基酸序列(可變區及恆定區)(SEQ ID NO: 305(圖16A)及306(圖16B))，其中將恆定域加下劃線。展示可變域之胺基酸序列(SEQ ID NO: 188(圖16A為輕鏈)及SEQ ID NO: 189(圖16B為重鏈))。

圖17A(輕鏈)及17B(重鏈)展示本發明之抗體(huMA79b.v28)之胺基酸序列。圖17A(輕鏈)及17B(重鏈)展示本發明之抗體(huMA79b.v28)之一實施例的構架(FR)、高變區(HVR)、第一恆定域(CL或CH1)及Fc區(Fc)之胺基酸序列(SEQ ID NO: 190-197(圖17A)及SEQ ID NO: 198-206(圖17B))。分別展示huMA79b.v28之輕鏈及重鏈之全長胺基酸序列(可變區及恆定區)(SEQ ID NO: 307(圖17A)及308(圖17B))，其中將恆定域加下劃線。展示可變域之胺基酸序列(SEQ ID NO: 207(圖7A-B為輕鏈)及SEQ ID NO: 208(圖8A-B為重鏈))。

圖18A(輕鏈)及18B(重鏈)展示本發明之抗體(huMA79b.v32)之胺基酸序列。圖18A(輕鏈)及18B(重鏈)展示本發明之抗體(huMA79b.v32)之一實施例的構架(FR)、高變區(HVR)、第一恆定域(CL或CH1)及Fc區(Fc)之胺基酸序列(SEQ ID NO: 209-216(圖18A)及SEQ ID NO: 217-225(圖18B))。分別展示huMA79b.v32之輕鏈及重鏈之全長胺基酸序列(可變區及恆定區)(SEQ ID NO: 309(圖18A)及310(圖18B))，其中將恆定域加下劃線。展示可變域之胺基酸序列(SEQ ID NO: 226(圖18A為輕鏈)及SEQ ID NO: 227(圖18B為重鏈))。

圖19展示來自人類(SEQ ID NO: 2)、獼猴(cyno)(SEQ ID NO: 7)及小鼠(SEQ ID NO: 8)之CD79b之胺基酸序列的比對。人類及cyno-CD79b具有85%胺基酸一致性。圖中指出信號序列、測試肽(實例1中所述之MA79b、chMA79b及抗-cyno CD79b抗體的11個胺基酸之抗原

決定基；ARSEDRYRNPK(SEQ ID NO: 12))、跨膜(TM)域及基於免疫受體酪胺酸之活化基元(ITAM)域。加框之區域為CD79b之拼接變異體中不存在的CD79b之區域(實例1中所述)。

圖20為關於BJAB-螢光素酶異種移植模型中活體內腫瘤生長之抑制之圖，該圖顯示向具有人類B細胞腫瘤之SCID小鼠投與抗-CD79b抗體((a)chMA79b-SMCC-DM1，藥物負荷為約2.9(表9)；及(b)huMA79b L2/H3-SMCC-DM1，藥物負荷為約2.4(表9))顯著抑制腫瘤生長。對照組包括Herceptin®(曲妥珠單抗)-SMCC-DM1(抗-HER2-SMCC-DM1)。

圖21A為關於Granta-519(人類套細胞淋巴瘤)異種移植模型中活體內腫瘤生長之抑制之圖，該圖顯示向具有人類B細胞腫瘤之SCID小鼠投與抗-CD79b抗體((a)chMA79b-SMCC-DM1，藥物負荷為約3.6(表10)；(b)huMA79b.v17-SMCC-DM1，藥物負荷為約3.4(表10)；(c)huMA79b.v28-SMCC-DM1，藥物負荷為約3.3或3.4(表10)；(d)huMA79b.v18-SMCC-DM1，藥物負荷為約3.4(表10)；及(e)huMA79b.v32-SMCC-DM1，藥物負荷為約2.9(表10))顯著抑制腫瘤生長。對照組包括Herceptin®(曲妥珠單抗)-SMCC-DM1(抗-HER2-SMCC-DM1)。圖21B為關於來自Granta-519異種移植研究(圖21A及表10)之小鼠之重量變化百分比的圖，該圖顯示在研究之頭7天期間重量無顯著變化。"hu"係指人類化抗體且"ch"係指嵌合抗體。

圖22展示半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體藥物共軛物(ADC)之圖示，其中藥物部分連接於輕鏈(LC-ADC)、重鏈(HC-ADC)及Fc區(Fc-ADC)中之工程化半胱胺酸基團。

圖23展示下列步驟：(i)用還原劑TCEP(鹽酸參(2-羧基乙基)膦)還原半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體(ThioMab)中之半胱胺酸二硫化物加合物及鏈間與鏈內二硫鍵；(ii)用dhAA(脫氫抗壞血酸)部分氧化，亦即再氧化以重新形成鏈間與鏈內二硫鍵；及(iii)使再氧化抗體與藥物-

連接子中間物共軛以形成半胱胺酸抗-CD79b藥物共軛物(ADC)。

圖24展示人類化半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體(thio-huMA79b.v17-HC-A118C)之(A)輕鏈序列(SEQ ID NO: 229)及(B)重鏈序列(SEQ ID NO: 228)，其中重鏈之EU位置118處之丙胺酸(依序位置丙胺酸118；Kabat位置114)變為半胱胺酸。藥物部分可連接於重鏈中之工程化半胱胺酸基團。在各圖中，改變之胺基酸以粗體文字、加雙下劃線顯示。加單下劃線指示恆定區。可變區為未加下劃線之區域。Fc區係以斜體標識。"Thio"係指半胱胺酸工程化抗體，而"hu"係指人類化抗體。

圖25展示人類化半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體(thio-huMA79b.v18-HC-A118C)之(A)輕鏈序列(SEQ ID NO: 231)及(B)重鏈序列(SEQ ID NO: 230)，其中重鏈之EU位置118處之丙胺酸(依序位置丙胺酸118；Kabat位置114)變為半胱胺酸。藥物部分可連接於重鏈中之工程化半胱胺酸基團。在各圖中，改變之胺基酸以粗體文字、加雙下劃線顯示。加單下劃線指示恆定區。可變區為未加下劃線之區域。Fc區係以斜體標識。"Thio"係指半胱胺酸工程化抗體，而"hu"係指人類化抗體。

圖26展示人類化半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體(thio-huMA79b.v28-HC-A118C)之(A)輕鏈序列(SEQ ID NO: 233)及(B)重鏈序列(SEQ ID NO: 232)，其中重鏈之EU位置118處之丙胺酸(依序位置丙胺酸118；Kabat位置114)變為半胱胺酸。藥物部分可連接於重鏈中之工程化半胱胺酸基團。在各圖中，改變之胺基酸以粗體文字、加雙下劃線顯示。加單下劃線指示恆定區。可變區為未加下劃線之區域。Fc區係以斜體標識。"Thio"係指半胱胺酸工程化抗體，而"hu"係指人類化抗體。

圖27展示半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體(thio-MA79b-LC-V205C)

之(A)輕鏈序列(SEQ ID NO: 235)及(B)重鏈序列(SEQ ID NO: 234)，輕鏈之Kabat位置205處之纈胺酸(依序位置纈胺酸209)變為半胱胺酸。藥物部分可連接於輕鏈中之工程化半胱胺酸基團。在各圖中，改變之胺基酸以粗體文字、加雙下劃線顯示。加單下劃線指示恆定區。可變區為未加下劃線之區域。Fc區係以斜體標識。"Thio"係指半胱胺酸工程化抗體。

圖28展示半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體(thio-MA79b-HC-A118C)之(A)輕鏈序列(SEQ ID NO: 237)及(B)重鏈序列(SEQ ID NO: 236)，其中重鏈之EU位置118處之丙胺酸(依序位置丙胺酸118；Kabat位置114)變為半胱胺酸。藥物部分可連接於重鏈中之工程化半胱胺酸基團。在各圖中，改變之胺基酸以粗體文字、加雙下劃線顯示。加單下劃線指示恆定區。可變區為未加下劃線之區域。Fc區係以斜體標識。"Thio"係指半胱胺酸工程化抗體。

圖29A-B為FACS圖，其指示本發明之抗-CD79b thioMAb藥物共軛物(TDC)與表現於BJAB-螢光素酶細胞表面上之CD79b的結合類似於chMA79b與MMAF之共軛(A)LC(V205C) thioMAb變異體及(B)HC(A118C) thioMAb變異體。用MS抗-人類IgG-PE進行偵測。"Thio"係指半胱胺酸工程化抗體。

圖30A-D為FACS圖，其指示本發明之抗-CD79b thioMAb藥物共軛物(TDC)與表現於BJAB-螢光素酶細胞表面上之CD79b的結合類似於huMA79b.v18之(A)裸(非共軛)HC(A118C) thioMAb變異體及huMA79b.v18與所示之不同藥物共軛物((B)MMAF、(C)MMAE及(D)DM1))之共軛HC(A118C) thioMAb變異體。用MS抗-人類IgG-PE進行偵測。"Thio"係指半胱胺酸工程化抗體，而"hu"係指人類化抗體。

圖31A-D為FACS圖，其指示本發明之抗-CD79b thioMAb藥物共軛物(TDC)與表現於BJAB-螢光素酶細胞表面上之CD79b的結合類似

於huMA79b.v28之(A)裸(非共軛)HC(A118C) thioMAb變異體及huMA79b.v28與所示之不同藥物共軛物((B)MMAE、(C)DM1及(D)MMAF))之共軛HC(A118C) thioMAb變異體。用MS抗-人類-PE進行偵測。"Thio"係指半胱胺酸工程化抗體，而"hu"係指人類化抗體。

圖32A-D為FACS圖，其指示本發明之抗-cynoCD79b thioMAb藥物共軛物(TDC)與表現於表現cynoCD79b之BJAB細胞表面上之CD79b的結合類似於抗-cynoCD79b(ch10D10)之(A)裸(非共軛)HC(A118C) thioMAb變異體及抗-cynoCD79b(ch10D10)與所示之不同藥物共軛物((B)MMAE、(C)DM1及(D)MMAF))之共軛HC(A118C) thioMAb變異體。用MS抗-huIgG-PE進行偵測。"Thio"係指半胱胺酸工程化抗體。

圖33A為關於Granta-519(人類套細胞淋巴瘤)異種移植模型中活體內腫瘤生長之抑制之圖，該圖顯示向具有人類B細胞腫瘤之SCID小鼠投與工程化半胱胺酸之位置不同(LC(V205C)或HC(A118C))及/或不同藥物劑量之抗-CD79b TDC顯著抑制腫瘤生長。用藥物負荷為約1.9(表11)之thio chMA79b-HC(A118C)-MC-MMAF或藥物負荷為約1.8(表11)之thio chMA79b-LC(V205C)-MC-MMAF治療的異種移植模型顯示在研究期間腫瘤生長得到顯著抑制。對照組包括hu-抗-HER2-MC-MMAF及thio hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF及chMA79b-MC-MMAF。圖33B為關於來自Granta-519異種移植研究(圖33A及表11)之小鼠之重量變化百分比的圖，其顯示在研究之頭14天期間重量無顯著變化。"Thio"係指半胱胺酸工程化抗體，而"hu"係指人類化抗體。

圖34A為關於BJAB-螢光素酶(伯基特氏淋巴瘤(Burkitt's Lymphoma))異種移植模型中活體內腫瘤生長之抑制之圖，該圖顯示向具有人類B細胞腫瘤之SCID小鼠投與與不同連接子藥物部分(MCvcPAB-MMAE、BMPEO-DM1或MC-MMAF)共軛之抗-CD79b

TDC顯著抑制腫瘤生長。用藥物負荷為約1.87(表12)之thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE、藥物負荷為約1.85(表12)之thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1或藥物負荷為約1.95(表12)之thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF治療的異種移植模型顯示在研究期間腫瘤生長得到顯著抑制。對照組包括抗-HER2對照組(thio hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF、thio hu-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE)、huMA79b.v28對照組(huMA79b.v28-SMCC-DM1及thio huMA79b.v28-HC(A118C))及抗-CD22對照組(thio hu-抗-CD22(10F4v3)-HC(A118C)-MC-MMAF)。圖34B為關於來自BJAB-螢光素酶異種移植研究(圖34A及表12)之小鼠之重量變化百分比的圖，其顯示在研究之頭7天期間重量無顯著變化。"Thio"係指半胱胺酸工程化抗體，而"hu"係指人類化抗體。

圖35A為關於WSU-DLCL2(瀰漫性大細胞淋巴瘤)異種移植模型中活體內腫瘤生長之抑制之圖，該圖顯示向具有人類B細胞腫瘤之SCID小鼠投與與不同連接子藥物部分(MCvcPAB-MMAE、BMPEO-DM1或MC-MMAF)共軛之抗-CD79b TDC顯著抑制腫瘤生長。用藥物負荷為約1.87(表13)之thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE、藥物負荷為約1.85(表13)之thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1或藥物負荷為約1.95(表13)之thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF治療的異種移植模型顯示在研究期間腫瘤生長得到顯著抑制。對照組包括抗-HER2對照組(thio hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF、thio hu-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE)、huMA79b.v28對照組(huMA79b.v28-SMCC-DM1及thio huMA79b.v28-HC(A118C))及抗-CD22對照組(thio hu-抗-CD22(10F4v3)-HC(A118C)-MC-MMAF)。圖35B為關於來自

WSU-DLCL2異種移植研究(圖35A及表13)之小鼠之重量變化百分比的圖，其顯示在研究之頭7天期間重量無顯著變化。"Thio"係指半胱胺酸工程化抗體，而"hu"係指人類化抗體。

圖36為關於DOHH2(濾泡性淋巴瘤)異種移植模型中活體內腫瘤生長之抑制之圖，該圖顯示向具有人類B細胞腫瘤之SCID小鼠投與與不同連接子藥物部分(BMPEO-DM1、MC-MMAF或MCvcPAB-MMAE)共軛之抗-CD79b TDC顯著抑制腫瘤生長。用thio huMA79b.v28-BMPEO-DM1(藥物負荷為約1.85(表14))、thio huMA79b.v28-MC-MMAF(藥物負荷為約1.95(表14))或thio MA79b-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE(藥物負荷為約1.87(表14))治療之異種移植模型顯示在研究期間腫瘤生長得到顯著抑制。對照組包括抗-HER2對照組(thio hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF、thio hu-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE)、huMA79b.v28對照組(huMA79b.v28-SMCC-DM1及thio huMA79b.v28-HC(A118C))及抗-CD22對照組(thio hu-抗-CD22(10F4v3)-HC(A118C)-MC-MMAF)。"Thio"係指半胱胺酸工程化抗體，而"hu"係指人類化抗體。

圖37為關於BJAB-螢光素酶(伯基特氏淋巴瘤)異種移植模型中活體內腫瘤生長之抑制之圖，該圖顯示向具有人類B細胞腫瘤之SCID小鼠投與與不同連接子藥物部分(MCvcPAB-MMAE、BMPEO-DM1或MC-MMAF)共軛及/或以所示之不同劑量投與之抗-CD79b TDC顯著抑制腫瘤生長。用藥物負荷為約1.85(表15)之thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1、藥物負荷為約1.9(表15)之thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE或藥物負荷為約1.9(表15)之thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF治療的異種移植模型顯示在研究期間腫瘤生長得到顯著抑制。對照組包括媒劑(僅為緩衝劑)、抗-

HER2對照組(thio hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF、thio hu-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE)、huMA79b.v28對照組(thio huMA79b.v28-HC(A118C))及抗-CD22對照組(thio hu-抗-CD22(10F4v3)-HC(A118C)-MC-MMAF)。"Thio"係指半胱胺酸工程化抗體，而"hu"係指人類化抗體。

圖38A為關於Granta-519(人類套細胞淋巴瘤)異種移植模型中活體內腫瘤生長之抑制之圖，該圖顯示向具有人類B細胞腫瘤之SCID小鼠投與與不同連接子藥物部分(BMPEO-DM1或MC-MMAF)共軛及/或以所示之不同劑量投與之抗-CD79b TDC顯著抑制腫瘤生長。用藥物負荷為約1.85(表16)之thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1或藥物負荷為約1.95(表16)之thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF治療的異種移植模型顯示在研究期間腫瘤生長得到顯著抑制。對照組包括抗-HER2對照組(thio hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF)。圖38B為關於來自Granta-519異種移植研究(圖38A及表16)之小鼠之重量變化百分比的圖，其顯示在研究之頭14天期間重量無顯著變化。"Thio"係指半胱胺酸工程化抗體，而"hu"係指人類化抗體。

圖39為關於WSU-DLCL2(瀰漫性大細胞淋巴瘤)異種移植模型中活體內腫瘤生長之抑制之圖，該圖顯示向具有人類B細胞腫瘤之SCID小鼠投與與不同連接子藥物部分(BMPEO-DM1、MC-MMAF或MCvcPAB-MMAE)共軛及/或以所示之不同劑量投與之抗-CD79b TDC顯著抑制腫瘤生長。用藥物負荷為約1.85(表17)之thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1、藥物負荷為約1.9(表17)之thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF或藥物負荷為約1.9 (表17)之thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE治療的異種移植模型顯示

在研究期間腫瘤生長得到顯著抑制。對照組包括媒劑(僅為緩衝劑)及抗-HER2對照組(thio hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF、thio hu-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE)。"Thio"係指半胱胺酸工程化抗體，而"hu"係指人類化抗體。

圖40為關於Granta-519(人類套細胞淋巴瘤)異種移植模型中活體內腫瘤生長之抑制之圖，該圖顯示向具有人類B細胞腫瘤之SCID小鼠投與與不同連接子藥物部分(BMPEO-DM1或MCvcPAB-MMAE)共軛及/或以所示之不同劑量投與之抗-CD79b TDC顯著抑制腫瘤生長。用藥物負荷為約1.85(表18)之thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1或藥物負荷為約1.87(表18)之thio huMA79b.v28-HC (A118C)-MCvcPAB-MMAE治療的異種移植模型顯示在研究期間腫瘤生長得到顯著抑制。對照組包括抗-HER2對照組(thio hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio hu-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE)。"Thio"係指半胱胺酸工程化抗體，而"hu"係指人類化抗體。

圖41展示關於用不同濃度0.001至10000 ng/毫升TDC治療之(A)BJAB、(B)Granta-519或(C)WSU-DLCL2腫瘤細胞之活體外細胞增生檢定結果的圖，其中TDC包括：(1)對照thio hu抗-gD-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE，2.0 MMAE/Ab負荷；(2)對照thio hu抗-gD-HC(A118C)-MC-MMAF，2.1 MMAF/Ab負荷；(3)對照thio hu抗-gD-HC (A118C)-BMPEO-DM1，2.1 DM1/Ab負荷；(4) thio huMA79b.v18-HC(A118C)-MC-MMAF，1.91 MMAF/Ab負荷；(5) thio huMA79b.v18-HC(A118C)-BMPEO-DM1，1.8 DM1/Ab負荷；及(6) thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE，2.0 MMAE/Ab負荷。"Thio"係指半胱胺酸工程化抗體，而"hu"係指人類化抗體。"gD"係指醣蛋白D。

圖42展示PRO283627 cDNA之核苷酸序列(SEQ ID NO: 238)，其中SEQ ID NO: 235為指定為"DNA548455"之純系(本文中亦稱為"cyno CD79b")。該核苷酸序列編碼獼猴CD79b，其中起始及終止密碼子以粗體顯示且加下劃線。

圖43展示源自圖42中所示之SEQ ID NO: 235之編碼序列的胺基酸序列(SEQ ID NO: 239)。

圖44展示抗-cyno CD79b抗體(ch10D10)之輕鏈之核苷酸序列(SEQ ID NO: 240)。該核苷酸序列編碼抗-cyno CD79b抗體(ch10D10)之輕鏈，其中起始及終止密碼子以粗體顯示且加下劃線。

圖45展示源自圖44中所示之SEQ ID NO: 240之編碼序列且缺失頭18個胺基酸信號序列的胺基酸序列(SEQ ID NO: 241)。可變區(SEQ ID NO: 302)為未加下劃線之區域。

圖46展示抗-cyno CD79b抗體(ch10D10)之重鏈之核苷酸序列(SEQ ID NO: 242)。該核苷酸序列編碼抗-cyno CD79b抗體(ch10D10)之重鏈，其中起始及終止密碼子以粗體顯示且加下劃線。

圖47展示源自圖46中所示之SEQ ID NO: 242之編碼序列且缺失頭18個胺基酸信號序列及終止密碼子之前之最後離胺酸(K)的胺基酸序列(SEQ ID NO: 243)。可變區(SEQ ID NO: 301)為未加下劃線之區域。

圖48展示半胱胺酸工程化抗-cyno CD79b抗體(Thio-抗-cynoCD79b-HC-A118C)之(A)輕鏈序列(SEQ ID NO: 245)及(B)重鏈序列(SEQ ID NO: 244)，其中重鏈之EU位置118處之丙胺酸(依序位置丙胺酸118；Kabat位置114)變為半胱胺酸。重鏈之EU位置6處之胺基酸D(圖中為陰影)可或者為E。藥物部分可連接於重鏈中之工程化半胱胺酸基團。在各圖中，改變之胺基酸以粗體文字、加雙下劃線顯示。加單下劃線指示恆定區。可變區為未加下劃線之區域。Fc區係以斜體標

識。"Thio"係指半胱胺酸工程化抗體。

圖49展示半胱胺酸工程化抗-cyno CD79b抗體(Thio-抗-cynoCD79b-LC-V205C)之(A)輕鏈序列(SEQ ID NO: 300)及(B)重鏈序列(SEQ ID NO: 299)，其中輕鏈之Kabat位置205處之纈胺酸(依序位置纈胺酸209)變為半胱胺酸。重鏈之EU位置6處之胺基酸D(圖中為陰影)可或者為E。藥物部分可連接於重鏈中之工程化半胱胺酸基團。在各圖中，改變之胺基酸以粗體文字、加雙下劃線顯示。加單下劃線指示恆定區。可變區為未加下劃線之區域。Fc區係以斜體標識。"Thio"係指半胱胺酸工程化抗體。

圖50為關於BJAB-cynoCD79b(表現cynoCD79b之BJAB細胞)(伯基特氏淋巴瘤)異種移植模型中活體內腫瘤生長之抑制之圖，該圖顯示向具有人類B細胞腫瘤之SCID小鼠投與與不同連接子藥物部分(BMPEO-DM1、MC-MMAF或MCvcPAB-MMAE)共軛之抗-CD79b TDC顯著抑制腫瘤生長。用藥物負荷為約1.85(表19)之thio huMA79b.v28-HC (A118C)-BMPEO-DM1、藥物負荷為約1.9(表19)之thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF或藥物負荷為約1.9(表19)之thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE、藥物負荷為約1.8(表19)之thio抗-cyno CD79b (ch10D10)-HC(A118C)-BMPEO-DM1、藥物負荷為約1.9(表19)之thio抗-cyno CD79b (ch10D10)-HC(A118C)-MC-MMAF或藥物負荷為約1.86(表19)之thio抗-cyno CD79b (ch10D10)-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE治療的異種移植模型顯示在研究期間腫瘤生長得到顯著抑制。對照組包括抗-HER2對照組(thio hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio hu-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE、thio hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF)。"Thio"係指半胱胺酸工程化抗體，而"hu"係指人類化抗體。

圖51為關於BJAB-cynoCD79b(表現cynoCD79b之BJAB細胞)(伯基

特氏淋巴瘤)異種移植模型中活體內腫瘤生長之抑制之圖，該圖顯示向具有人類B細胞腫瘤之SCID小鼠投與具有BMPEO-DM1連接子藥物部分且以所示之不同劑量投與之抗-CD79bTDC顯著抑制腫瘤生長。用藥物負荷為約1.85(表20)之thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1或藥物負荷為約1.8(表20)之thio抗-cyno (ch10D10)-HC(A118C)-BMPEO-DM1治療的異種移植模型顯示在研究期間腫瘤生長得到顯著抑制。對照組包括抗-HER2對照組(thio hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1)及huMA79b.v28對照組(thio huMA79b.v28-HC(A118C))及抗-cynoCD79b(ch10D10)對照組(thio抗-cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C))。"Thio"係指半胱胺酸工程化抗體，而"hu"係指人類化抗體。

【實施方式】

本發明提供用於鑑別適用於治療哺乳動物之造血腫瘤之組合物的方法、組合物、套組及製品以及使用彼等物質組合物來治療該造血腫瘤之方法。

在本文中提供此等方法、組合物、套組及製品之詳情。

I.通用技術

除非另有指示，否則本發明之實施將利用分子生物學(包括重組技術)、微生物學、細胞生物學、生物化學及免疫學之習知技術，其均屬於此項技術之技能範圍內。該等技術已在諸如以下者之文獻中得到充分闡述："Molecular Cloning: A Laboratory Manual"，第二版(Sambrook等人，1989)；"Oligonucleotide Synthesis"(M. J. Gait編，1984)；"Animal Cell Culture"(R. I. Freshney編，1987)；"Methods in Enzymology"(Academic Press, Inc.)；"Current Protocols in Molecular Biology"(F. M. Ausubel等人編，1987，及週期更新)；"PCR: The Polymerase Chain Reaction"，(Mullis等人編，1994)；"A Practical

Guide to Molecular Cloning"(Perbal Bernard V., 1988)；"Phage Display: A Laboratory Manual"(Barbas等人，2001)。

II.定義

出於解釋本說明書之目的，下列定義將適用且無論何時均為適當的，以單數形式使用之術語亦將包括複數且反之亦然。在所陳述之任何定義與以引用之方式併入本文中之任何文獻相抵觸的情況下，應以以下陳述之定義為準。

在本文中"B細胞表面標記"或"B細胞表面抗原"為可用能與之結合之拮抗劑靶向之表現於B細胞表面上的抗原，該拮抗劑包括(但不限於)能夠拮抗配位體與天然存在之B細胞抗原之結合的B細胞表面抗原或可溶性形式之B細胞表面抗原之抗體。例示性B細胞表面標記包括CD10、CD19、CD20、CD21、CD22、CD23、CD24、CD37、CD40、CD53、CD72、CD73、CD74、CDw75、CDw76、CD77、CDw78、CD79a、CD79b、CD80、CD81、CD82、CD83、CDw84、CD85及CD86白血球表面標記(關於描述，參見The Leukocyte Antigen Facts Book，第2版，1997，編輯：Barclay等人Academic Press, Harcourt Brace & Co., New York)。其他B細胞表面標記包括RP105、FcRH2、B細胞CR2、CCR6、P2X5、HLA-DOB、CXCR5、FCER2、BR3、BAFF、BLyS、Btig、NAG14、SLGC16270、FcRH1、IRTA2、ATWD578、FcRH3、IRTA1、FcRH6、BCMA及239287。與哺乳動物之其他非B細胞組織相比，特別受關注之B細胞表面標記優先地表現於B細胞上且可表現於前驅B細胞及成熟B細胞兩者上。

除非另有指示，否則如本文所使用，術語"CD79b"係指來自任何脊椎動物來源之任何天然CD79b，該來源包括哺乳動物，諸如靈長類動物(例如人類、獼猴(cyno))及齧齒類動物(例如小鼠及大鼠)。人類CD79b在本文中亦稱為"PRO36249"(SEQ ID NO: 2)且由本文中亦稱為

"DNA225786"之核苷酸序列(SEQ ID NO: 1)編碼。獼猴CD79b在本文中亦稱為"cyno CD79b"或"PRO283627"(SEQ ID NO: 239)且由本文中亦稱為"DNA548455"之核苷酸序列(SEQ ID NO: 238)編碼。術語"CD79b"涵蓋"全長"、未加工之CD79b以及由細胞中之加工產生的任何形式之CD79b。該術語亦涵蓋CD79b之天然存在之變異體，例如拼接變異體、對偶基因變異體及同功異型物。本文所述之CD79b多肽可自多種來源分離，諸如自人類組織類型或另一來源分離，或藉由重組或合成方法製備。"天然序列CD79b多肽"包含具有與源自自然界之相應CD79b多肽相同之胺基酸序列的多肽。該等天然序列CD79b多肽可自自然界分離或可藉由重組或合成方法產生。術語"天然序列CD79b多肽"具體涵蓋特異性CD79b多肽之天然存在之截短或分泌形式(例如細胞外域序列)、該多肽之天然存在之變異形式(例如交替拼接形式)及天然存在之對偶基因變異體。在本發明之某些實施例中，本文所揭示之天然序列CD79b多肽為包含附圖中所示之全長胺基酸序列之成熟或全長天然序列多肽。起始及終止密碼子(若指出)在圖中以粗體顯示且加下劃線。附圖中以"N"表示之核酸殘基為任何核酸殘基。然而，雖然展示附圖中所揭示之CD79b多肽在圖中自本文中指定為胺基酸位置1之甲硫胺酸殘基開始，但可以想像且有可能的是在圖中位於胺基酸位置1之上游或下游之其他甲硫胺酸殘基可用作CD79b多肽之起始胺基酸殘基。

"MA79b"或"鼠類CD79b抗體"或"鼠類抗-CD79b抗體"在本文中用於具體指鼠類抗-CD79b單株抗體，其中該鼠類抗-CD79b單株抗體包含SEQ ID NO: 10之輕鏈可變域(圖7A-B)及SEQ ID NO: 14之重鏈可變域(圖8A-B)。鼠類抗-CD79b單株抗體可購自商業來源，諸如Biomeda(抗-人類CD79b抗體；Foster City, CA)、BDbioscience(抗-人類CD79b抗體；San Diego, CA)或Ancell(抗-人類CD79b抗體；

Bayport, MN)，或由融合瘤純系3A2-2E7(美國菌種保藏中心(ATCC)寄存編號HB11413，1993年7月20日寄存於ATCC)產生。

"chMA79b"或"嵌合MA79b抗體"在本文中用於具體指嵌合抗-人類CD79b抗體(如先前2006年8月3日申請之美國申請案第11/462,336號中所述)，其中該嵌合抗-CD79b抗體包含SEQ ID NO: 4之輕鏈(圖4)。SEQ ID NO: 4之輕鏈進一步包含SEQ ID NO: 10之可變域(圖7A-B)及人類IgG1之輕鏈恆定域。嵌合抗-CD79b抗體進一步包含SEQ ID NO: 6之重鏈(圖6)。SEQ ID NO: 6之重鏈進一步包含SEQ ID NO: 14之可變域(圖8A-B)及人類IgG1之重鏈恆定域。

"抗-cynoCD79b"或"抗-cyno CD79b"在本文中用於指結合於cyno CD79b(圖43之SEQ ID NO: 239)之抗體(如先前2006年8月3日申請之美國申請案第11/462,336號中所述)。"抗-cynoCD79b(ch10D10)"或"ch10D10"在本文中用於指結合於cynoCD79b(圖43之SEQ ID NO: 239)之嵌合抗-cynoCD79b(如先前2006年8月3日申請之美國申請案第11/462,336號中所述)。抗-cynoCD79b(ch10D10)或ch10D10為包含SEQ ID NO: 241之輕鏈(圖45)之嵌合抗-cynoCD79b抗體。抗-cynoCD79b(ch10D10)或ch10D10進一步包含SEQ ID NO: 243之重鏈(圖47)。

"MA79b接枝物"或"MA79b接枝'人類化'抗體"或"huMA79b接枝物"在本文中用於具體指藉由將來自鼠類抗-CD79b抗體(MA79b)之高變區接枝於具有R71A、N73T及L78A之受體人類一致VL κ I(huKI)及人類亞群III一致VH(huIII)中所產生的接枝物(Carter等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992))(參見實例1A及圖7(SEQ ID NO: 11)及8(SEQ ID NO: 15))。

如本文所使用，胺基酸殘基/位置之"修飾"係指與起始胺基酸序列相比一級胺基酸序列之變化，其中該變化由涉及該胺基酸殘基/位

置之序列變化引起。舉例而言，典型修飾包括用另一胺基酸取代該殘基(或於該位置處進行取代)(例如保守性或非保守性取代)、相鄰於該殘基/位置插入一或多個(一般少於5或3個)胺基酸及缺失該殘基/位置。"胺基酸取代"或其變化形式係指用不同胺基酸殘基置換預定(起始)胺基酸序列中之現有胺基酸殘基。一般而言且較佳的是，該修飾導致與包含起始(或"野生型")胺基酸序列之多肽相比變異多肽之至少一種物理生化活性的變化。舉例而言，在抗體之情況下，所改變之物理生化活性可為對靶分子之結合親和力、結合能力及/或結合效應。

術語"抗體"係在最廣泛意義上加以使用且具體涵蓋(例如)單一抗-CD79b單株抗體(包括促效劑、拮抗劑、中和抗體、全長或完整單株抗體)、具有多抗原決定基特異性之抗-CD79b抗體組合物、多株抗體、多價抗體、由至少兩種完整抗體形成之多特異性抗體(例如雙特異性抗體，只要其展現所需生物活性即可)、單鏈抗-CD79b抗體及抗-CD79b抗體之片段(參見下文)(包括Fab、Fab'、$F(ab')_2$及Fv片段)、雙功能抗體、單域抗體(sdAb)(只要其展現所需生物或免疫活性即可)。術語"免疫球蛋白"(Ig)在本文中可與抗體互換使用。抗體可為人類抗體、人類化抗體及/或親和力成熟抗體。

術語"抗-CD79b抗體"或"結合於CD79b之抗體"係指能夠以足夠親和力結合CD79b以便使抗體適用作靶向CD79b之診斷劑及/或治療劑的抗體。較佳地，如(例如)藉由放射免疫檢定(RIA)所量測，抗-CD79b抗體與無關非CD79b蛋白質之結合程度小於該抗體與CD79b之結合的約10%。在某些實施例中，結合於CD79b之抗體具有≤1 μM、≤100 nM、≤10 nM、≤1 nM或≤0.1 nM之解離常數(Kd)。在某些實施例中，抗-CD79b抗體結合於CD79b之抗原決定基，其在來自不同物種之CD79b之間為保守的。

"經分離之抗體"為已自自然環境之組份中鑑別且分離及/或回收

的抗體。其自然環境之污染物組份為會干擾抗體之治療用途之物質，且可包括酶、激素及其他蛋白質性或非蛋白質性溶質。在較佳實施例中，抗體將被純化(1)至如藉由勞立法(Lowry method)所測定之大於95重量%抗體，且最佳至大於99重量%；(2)至足以藉由使用轉杯式測序儀獲得N末端或內部胺基酸序列之至少15個殘基的程度；或(3)至藉由SDS-PAGE在還原或非還原條件下使用庫馬斯藍(Coomassie blue)或較佳銀染色得知之均質性。經分離之抗體包括重組細胞內之原位抗體，此係因為抗體之自然環境中之至少一個組份將不會存在。然而，經分離之抗體通常將藉由至少一個純化步驟來製備。

基礎4鏈抗體單元為由兩個一致輕(L)鏈及兩個一致重(H)鏈構成之異質四聚醣蛋白(IgM抗體由5個基礎異質四聚體單元以及另一稱為J鏈之多肽組成，且因此含有10個抗原結合位點，而分泌性IgA抗體可聚合形成包含2-5個基礎4鏈單元以及J鏈之多價集合體)。在IgG之情況下，4鏈單元一般為約150,000道爾頓。各L鏈係藉由一個共價二硫鍵連接於H鏈，而兩個H鏈係藉由一或多個二硫鍵互相連接，此視H鏈同型而定。各H及L鏈亦具有規律間隔之鏈內二硫橋。各H鏈於N末端處具有可變域(V_H)，接著對於α及γ鏈各為三個恆定域(C_H)且對於μ及ε同型為四個C_H域。各L鏈於N末端處具有可變域(V_L)，接著於其其他末端處具有恆定域(C_L)。V_L與V_H對準且C_L與重鏈之第一恆定域(C_H1)對準。咸信特定胺基酸殘基形成輕鏈與重鏈可變域之間的界面。V_H及V_L之配對共同形成單一抗原結合位點。關於抗體之不同種類之結構及特性，參見例如**Basic and Clinical Immunology**，第8版，Daniel P. Stites, Abba I. Terr及Tristram G. Parslow (編), Appleton & Lange, Norwalk, CT, 1994，第71頁及第6章。

來自任何脊椎動物物種之L鏈基於其恆定域之胺基酸序列可歸屬於兩種明顯不同之類型(稱為κ及λ)中之一者。視重鏈之恆定域(C_H)之

胺基酸序列而定，免疫球蛋白可分為不同種類或同型。存在五種免疫球蛋白：IgA、IgD、IgE、IgG及IgM，其分別具有稱為α、δ、ε、γ及μ之重鏈。γ及α類別根據C_H序列及功能之相對較小差別而進一步被分為亞類，例如人類表現下列亞類：IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及IgA2。

抗體之"可變區"或"可變域"係指抗體之重鏈或輕鏈之胺基末端域。重鏈之可變域可稱為"VH"。輕鏈之可變域可稱為"VL"。此等域一般為抗體之最可變之部分且含有抗原結合位點。

術語"可變"係指可變域之某些區段的序列在抗體之間廣泛不同的事實。V域介導抗原結合且確定特定抗體對其特定抗原之特異性。然而，可變性在可變域之110個胺基酸跨度上並非均勻分布。事實上，V區由具有15-30個胺基酸之稱為構架區(FR)的相對不變之一段序列組成，該等構架區被長度各為9-12個胺基酸之稱為"高變區"的具極端可變性之較短區所分隔開。天然重鏈及輕鏈之可變域各自包含四個主要採用β摺疊構型、藉由三個高變區連接之FR，該等高變區形成連接β摺疊結構之環，且在一些情況下形成β摺疊結構之部分。各鏈中之高變區藉由FR極接近地固持在一起，且與來自另一鏈之高變區一起促使抗體之抗原結合位點形成(參見Kabat等人，**Sequences of Proteins of Immunological Interest**，第5版，Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991))。恆定域並不直接涉及使抗體與抗原結合，但展現各種效應功能，諸如使抗體參與抗體依賴性細胞細胞毒性(ADCC)。

"完整"抗體為包含抗原結合位點以及C_L及至少重鏈恆定域C_H1、C_H2及C_H3之抗體。恆定域可為天然序列恆定域(例如人類天然序列恆定域)或其胺基酸序列變異體。較佳地，完整抗體具有一或多種效應功能。

出於本文之目的，"裸抗體"為不與細胞毒性部分或放射性標記共軛之抗體。

"抗體片段"包含完整抗體之一部分，較佳為完整抗體之抗原結合區或可變區。抗體片段之實例包括Fab、Fab'、$F(ab')_2$及Fv片段；雙功能抗體；線性抗體(參見美國專利第5,641,870號，實例2；Zapata等人，Protein Eng. 8(10): 1057-1062 [1995])；單鏈抗體分子；及由抗體片段形成之多特異性抗體。在一實施例中，抗體片段包含完整抗體之抗原結合位點且因此保留結合抗原之能力。

抗體之木瓜蛋白酶消化產生兩個一致抗原結合片段，稱為"Fab"片段及殘餘"Fc"片段，此為反映容易結晶之能力的名稱。Fab片段由整個L鏈以及H鏈之可變區域(V_H)及一個重鏈之第一恆定域(C_H1)組成。每一Fab片段對於抗原結合為單價的，亦即其具有單一抗原結合位點。抗體之胃蛋白酶處理產生單一大$F(ab')_2$片段，其大致對應於具有二價抗原結合活性之兩個二硫鍵連接之Fab片段且仍能夠使抗原交聯。Fab'片段與Fab片段之不同之處為於C_H1域之羧基末端處具有額外少數殘基，包括一或多個來自抗體鉸鏈區之半胱胺酸。Fab'-SH為本文中對於恆定域之半胱胺酸殘基帶有游離硫醇基之Fab'的名稱。$F(ab')_2$抗體片段最初係以彼此之間具有鉸鏈半胱胺酸之Fab'片段對之形式產生。抗體片段之其他化學偶合亦為已知。

Fc片段包含由二硫鍵固持在一起之兩個H鏈之羧基末端部分。抗體之效應功能係由Fc區之序列決定，該區亦為由見於某些細胞類型之Fc受體(FcR)識別之部分。

"Fv"為含有完整抗原識別及結合位點之最小抗體片段。此片段由一個重鏈可變區域與一個輕鏈可變區域緊密、非共價締合之二聚體組成。在單鏈Fv(scFv)類型中，一個重鏈可變域及一個輕鏈可變域可藉由撓性肽連接子共價連接以使得輕鏈及重鏈可以類似於兩鏈Fv類型之

"二聚"結構締合。源自此等兩個域之摺疊的六個高變環(來自H及L鏈各3個環)促成胺基酸殘基之抗原結合且賦予抗體抗原結合特異性。然而，甚至單個可變域(或包含僅三個對抗原具特異性之CDR的Fv之一半)亦具有識別及結合抗原之能力，但親和力比整個結合位點低。

"單鏈Fv"亦被縮寫為"sFv"或"scFv"且為包含連接於單一多肽鏈中之V_H及V_L抗體域之抗體片段。較佳地，sFv多肽另外包含介於V_H域與V_L域之間的多肽連接子，其使sFv能夠形成抗原結合之所需結構。關於sFv之綜述，參見Pluckthun, **The Pharmacology of Monoclonal Antibodies**，第113卷，Rosenburg及Moore編，Springer-Verlag, New York，第269-315頁(1994)；Borrebaeck 1995，見下文。

術語"雙功能抗體"係指具有兩個抗原結合位點之抗體片段，該等片段包含在同一多肽鏈(VH-VL)中與輕鏈可變域(VL)連接之重鏈可變域(VH)。小抗體片段係藉由以下程序製備：在V_H域與V_L域之間用短連接子(約5-10個殘基)建構sFv片段(參見前述章節)以使得達成V域之鏈間而非鏈內配對，從而產生二價片段，亦即具有兩個抗原結合位點之片段。雙功能抗體可為二價或雙特異性抗體。雙特異性雙功能抗體為兩個"交叉"sFv片段之異質二聚體，其中兩個抗體之V_H域及V_L域存在於不同多肽鏈上。雙功能抗體更充分描述於(例如)EP 404,097、WO 93/11161、Hudson等人，*Nat. Med.* 9:129-134 (2003)及Hollinger等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:6444-6448 (1993)中。三功能抗體及四功能抗體亦描述於Hudson等人，*Nat. Med.* 9:129-134 (2003)中。

如本文所使用，術語"單株抗體"係指自一群大體上均質之抗體獲得之抗體，亦即構成該群之個別抗體除可以微量存在之可能天然產生之突變以外為相同的。單株抗體針對單一抗原位點具高度特異性。此外，與包括針對不同決定子(抗原決定基)之不同抗體之多株抗體製劑不同，每一單株抗體係針對抗原上之單一決定子。除其特異性外，單

株抗體因其可在不受其他抗體污染之情況下合成而為有利的。修飾語"單株"不應被理解為需要藉由任何特定方法來產生抗體。舉例而言，適用於本發明之單株抗體可藉由最初由Kohler等人，**Nature**, 256:495 (1975)描述之融合瘤方法來製備，或可在細菌、真核動物或植物細胞中使用重組DNA方法製造(參見例如美國專利第4,816,567號)。"單株抗體"亦可使用(例如)Clackson等人，**Nature**, 352:624-628 (1991)及Marks等人，**J. Mol. Biol.**, 222:581-597 (1991)中所述之技術自噬菌體抗體庫分離。

本文中之單株抗體包括"嵌合"抗體，其中重鏈及/或輕鏈之一部分與源自特定物種或屬於特定抗體種類或亞類之抗體的相應序列一致或同源，而該(等)鏈之其餘部分與源自另一物種或屬於另一抗體種類或亞類之抗體的相應序列一致或同源；以及該等抗體之片段，只要其展現所需生物活性即可(參見美國專利第4,816,567號；及Morrison等人，**Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 81:6851-6855 (1984))。本文中所關注之嵌合抗體包括"靈長類化"抗體，其包含源自非人類靈長類動物(例如舊大陸猴(Old World Monkey)、猿等)之可變域抗原結合序列及人類恆定區序列。

"人類化"形式之非人類(例如齧齒類)抗體為含有源自非人類抗體之最小序列之嵌合抗體。一般而言，人類化抗體為如下人類免疫球蛋白(受體抗體)，其中來自受體之高變區之殘基由具有所需抗體特異性、親和力及能力的來自諸如小鼠、大鼠、兔或非人類靈長類動物之非人類物種之高變區(供體抗體)的殘基置換。在一些情況下，人類免疫球蛋白之構架區(FR)殘基由相應非人類殘基置換。此外，人類化抗體可能包含不存在於受體抗體或供體抗體中之殘基。進行此等修飾以進一步改進抗體效能。一般而言，人類化抗體將包含至少一個且通常兩個可變域之大體上全部，其中所有或大體上所有高變環對應於非人

類免疫球蛋白之彼等者且所有或大體上所有FR為人類免疫球蛋白序列之彼等者。人類化抗體視情況亦將包含免疫球蛋白恆定區(Fc)之至少一部分，通常為人類免疫球蛋白之至少一部分。欲知詳情，參見Jones等人，**Nature** 321:522-525 (1986)；Riechmann等人，**Nature** 332:323-329 (1988)；及Presta, **Curr. Op. Struct. Biol.** 2:593-596 (1992)。亦參見下列綜述文章及其中所引用之參考文獻：Vaswani及Hamilton, *Ann. Allergy, Asthma and Immunol.*, 1:105-115 (1998)；Harris, *Biochem. Soc. Transactions*, 23:1035-1038 (1995)；Hurle及Gross, *Curr. Op. Biotech.*, 5:428-433 (1994)。

"Thio"當在本文中用於指抗體時係指半胱胺酸工程化抗體，而"hu"當在本文中用於指抗體時係指人類化抗體。

"人類抗體"為具有對應於由人類產生且/或使用如本文所揭示用於製造人類抗體之技術中的任一者製造之抗體之胺基酸序列的胺基酸序列之抗體。此關於人類抗體之定義明確地排除包含非人類抗原結合殘基之人類化抗體。人類抗體可使用此項技術中已知之各種技術(包括噬菌體呈現庫)來產生。Hoogenboom及Winter, *J. Mol. Biol.*, 227:381 (1991)；Marks等人，*J. Mol. Biol.*, 222:581 (1991)。Cole等人，*Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss，第77頁(1985)；Boerner等人，*J. Immunol.*, 147(1):86-95 (1991)中所述之方法亦可用於製備人類單株抗體。亦參見van Dijk及van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.*, 5: 368-74 (2001)。人類抗體可藉由向已為了響應於抗原激發產生該等抗體而被改變、但內源性基因座已不能使用之轉殖基因動物(例如經免疫之轉殖基因小鼠(xenomice))投與抗原來製備(參見例如關於XENOMOUSE™技術之美國專利第6,075,181號及第6,150,584號)。亦參見例如關於經由人類B細胞融合瘤技術產生之人類抗體的Li等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006)。

術語"高變區"、"HVR"或"HV"當在本文中使用時係指抗體可變域中在序列上高變且/或形成結構確定之環的區域。一般而言，抗體包含六個高變區；三個在VH(H1、H2、H3)中，且三個在VL(L1、L2、L3)中。本文中使用且涵蓋許多關於高變區之描繪。Kabat互補判定區(CDR)係基於序列可變性且為最常使用者(Kabat等人，*Sequences of Proteins of Immunological Interest*，第5版，Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991))。而Chothia係指結構環之位置(Chothia及Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987))。當使用Kabat編號規則編號時，Chothia CDR-H1環之末端在H32與H34之間變化，此視環之長度而定(此係因為Kabat編號方案將插入置於H35A及H35B處；若既不存在35A亦不存在35B，則環末端位於32處；若僅存在35A，則環末端位於33處；若存在35A與35B兩者，則環末端位於34處)。AbM高變區表示Kabat CDR與Chothia結構環之間的折衷，且藉由Oxford Molecular之AbM抗體模型化軟體而加以使用。"接觸"高變區係基於可得到之複雜晶體結構的分析。來自此等高變區中之每一者的殘基係在下文中作出註釋。

環	Kabat	AbM	Chothia	接觸
----	-----	---	-------	-------
L1	L24-L34	L24-L34	L24-L34	L30-L36
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L56	L46-L55
L3	L89-L97	L89-L97	L89-L97	L89-L96
H1	H31-H35B (Kabat編號)	H26-H35B	H26-H32..34	H30-H35B

H1	H31-H35 (Chothia編號)	H26-H35	H26-H32	H30-H35
H2	H50-H65	H50-H58	H52-H56	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H95-H102	H93-H101

高變區可包含如下"延伸高變區"：VL中之24-36或24-34(L1)、46-56或50-56(L2)及89-97(L3)，以及VH中之26-35B(H1)、50-65、47-65或49-65(H2)及93-102、94-102或95-102(H3)。可變域殘基係根據Kabat等人(見上文)針對此等定義中之每一者而進行編號。

"構架"或"FR"殘基為除本文所定義之高變區殘基外之彼等可變域殘基。

術語"如Kabat中之可變域殘基編號"或"如Kabat中之胺基酸位置編號"及其變化形式係指Kabat等人，Sequences of Proteins of Immunological Interest，第5版，Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)中用於編制抗體之重鏈可變域或輕鏈可變域的編號系統。使用此編號系統，實際線性胺基酸序列可能含有對應於可變域之FR或CDR之縮短或插入可變域之FR或CDR中的較少或額外胺基酸。舉例而言，重鏈可變域可包括在H2之殘基52後插入之單個胺基酸(根據Kabat為殘基52a)及在重鏈FR殘基82後插入之殘基(例如，根據Kabat為殘基82a、82b及82c等)。可藉由在同源區將抗體序列與"標準" Kabat編號序列比對來確定給定抗體之殘基的Kabat編號。

Kabat編號系統一般係在提及可變域中之殘基(大致為輕鏈之殘基1-107及重鏈之殘基1-113)時使用(例如，Kabat等人，*Sequences of*

Immunological Interest. 第 5 版 ， Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991))。"EU編號系統"或"EU指數"一般係在提及免疫球蛋白重鏈恆定區中之殘基時使用(例如，Kabat等人(見上文)中所報導之EU指數)。"如Kabat中之EU指數"係指人類IgG1 EU抗體之殘基編號。除非本文中另有說明，否則對抗體之可變域中之殘基編號的提及意謂根據Kabat編號系統之殘基編號。除非本文中另有說明，否則對抗體之恆定域中之殘基編號的提及意謂根據EU編號系統之殘基編號(例如，參見美國臨時申請案第60/640,323號，關於EU編號之圖)。

"親和力成熟"抗體為如下抗體：在其一或多個HVR中具有一或多個變化，導致該抗體與不具有彼等變化之親本抗體相比對抗原之親和力有所改善。較佳之親和力成熟抗體將對靶抗原具有奈莫耳或甚至皮莫耳親和力。親和力成熟抗體係藉由此項技術中已知之程序產生。Marks等人之*Bio/Technology* 10:779-783 (1992)描述藉由VH及VL域改組引起之親和力成熟。HVR及/或構架殘基之隨機突變誘發係由下列文獻所描述：Barbas等人，*Proc Nat. Acad. Sci, USA* 91:3809-3813 (1994)；Schier等人，*Gene* 169:147-155 (1995)；Yelton等人，*J. Immunol.* 155:1994-2004 (1995)；Jackson等人，*J. Immunol.* 154(7):3310-9 (1995)；及Hawkins等人，*J. Mol. Biol.* 226:889-896 (1992)。

"阻斷"抗體或"拮抗劑"抗體為抑制或降低所結合之抗原之生物活性的抗體。較佳阻斷抗體或拮抗劑抗體大體上或完全抑制抗原之生物活性。

如本文所使用，"促效劑抗體"為模擬所關注多肽之功能活性中之至少一者的抗體。

"物種依賴性抗體"(例如哺乳動物抗-人類IgE抗體)為對來自第一

哺乳動物物種之抗原之結合親和力比其對來自第二哺乳動物物種之彼抗原之同系物的結合親和力強之抗體。通常，物種依賴性抗體"特異性結合"於人類抗原(亦即，具有不超過約1×10^{-7} M、較佳不超過約1×10^{-8} M且最佳不超過約1×10^{-9} M之結合親和力(Kd)值)，但對來自第二非人類哺乳動物物種之該抗原之同系物的結合親和力比其對人類抗原之結合親和力弱至少約50倍，或至少約500倍，或至少約1000倍。物種依賴性抗體可為如上文所定義之各種類型之抗體中的任一者，但較佳為人類化或人類抗體。

"結合親和力"一般係指分子(例如抗體)之單一結合位點與其結合搭配物(例如抗原)之間的非共價相互作用之總和的強度。如本文所使用，除非另有指示，否則"結合親和力"係指反映結合對之成員(例如抗體與抗原)之間的1:1相互作用之固有結合親和力。分子X對於其搭配物Y之親和力一般可由解離常數(Kd)表示。親和力可藉由此項技術中已知之通用方法量測，包括本文所述之彼等方法。低親和力抗體一般緩慢地結合抗原且傾向於容易解離，而高親和力抗體一般較快地結合抗原且傾向於較久地保持結合。各種量測結合親和力之方法在此項技術中係已知的，出於本發明之目的可使用其任一者。特定說明性實施例在下文描述。

"或更好"當在本文中用於指結合親和力時係指分子與其結合搭配物之間的更強結合。"或更好"當在本文中使用時係指以較小Kd數值表示之更強結合。舉例而言，就對抗原具有"0.6 nM或更好"之親和力的抗體而言，該抗體對該抗原之親和力小於0.6 nM，亦即0.59 nM、0.58 nM、0.57 nM等或小於0.6 nM之任何值。

在一實施例中，根據本發明之"Kd"或"Kd值"係藉由用所關注抗體之Fab形式及其抗原執行的放射性標記抗原結合檢定(RIA)來量測，如由以下檢定所述：藉由在連續滴定之非標記抗原存在下使Fab與最

小濃度之(^{125}I)標記抗原平衡，接著用塗有抗-Fab抗體之板捕捉結合抗原，從而量測Fab對抗原之溶液結合親和力(Chen等人，(1999) *J. Mol Biol* 293:865-881)。為建立檢定之條件，用50 mM碳酸鈉(pH 9.6)中之5 μg/ml捕捉抗-Fab抗體(Cappel Labs)塗覆微量滴定板(Dynex)隔夜，且隨後於室溫(約23℃)下用PBS中之2%(w/v)牛血清白蛋白阻斷2至5小時。在無吸附劑板(Nunc # 269620)中，將100 pM或26 pM [^{125}I]-抗原與連續稀釋之所關注Fab混合(例如，與Presta等人，(1997) *Cancer Res.* 57:4593-4599中對抗-VEGF抗體Fab-12之評估一致)。接著將所關注Fab培養隔夜；然而，該培養可持續較長時段(例如65小時)以確保達到平衡。此後，將混合物轉移至捕捉板上以於室溫下進行培養(例如歷時一個小時)。接著移除溶液且用PBS中之0.1%吐溫-20(Tween-20)將該板洗滌八次。當板已乾燥時，添加150微升/孔之閃爍體(MicroScint-20；Packard)，且將板以Topcount γ計數器(Packard)計數歷時十分鐘。選擇產生小於或等於最大結合之20%的各Fab濃度用於競爭性結合檢定。根據另一實施例，Kd或Kd值係藉由用表面電漿共振檢定，於25℃下使用BIAcore™-2000或BIAcore™-3000(BIAcore, Inc., Piscataway, NJ)以約10反應單位(RU)之固定抗原CM5晶片來量測。簡言之，根據供應商之說明，用*N*-乙基-*N'*-(3-二甲胺基丙基)-碳化二亞胺鹽酸鹽(EDC)及*N*-羥基丁二醯亞胺(NHS)活化羧甲基化葡聚糖生物感應器晶片(CM5，BIAcore Inc.)。用10 mM乙酸鈉(pH 4.8)將抗原稀釋為5 μg/ml(約0.2 μM)，隨後以5微升/分鐘之流動速率注射以獲得約10反應單位(RU)之偶合蛋白質。在注射抗原後，注射1 M乙醇胺以阻斷未反應之基團。對於動力學量測而言，於25℃下將兩倍連續稀釋之Fab(0.78 nM至500 nM)以約25 μl/min之流動速率注入具有0.05%吐溫20之PBS(PBST)中。使用簡單一對一朗繆爾結合模型(Langmuir binding model)(BIAcore評估軟體(BIAcore Evaluation

Software)3.2版)，藉由同時擬合締合及解離感應圖來計算締合速率(k_{on})及解離速率(k_{off})。平衡解離常數(Kd)係以比率k_{off}/k_{on}計算。參見(例如)Chen, Y.,等人，(1999) *J. Mol Biol* 293:865-881。若藉由上述表面電漿共振檢定得知，on速率超過10^6 M^{-1} S^{-1}，則可藉由使用於25℃下量測於PBS(pH 7.2)中之20 nM抗-抗原抗體(Fab形式)之螢光發射強度(激發=295 nm；發射=340 nm，16 nm帶通)之增減的螢光淬滅技術在如光譜計所量測之遞增濃度的抗原存在下測定on速率，該光譜計諸如具有經攪拌比色皿之停流配備光譜光度計(Aviv Instruments)或8000系列SLM-Aminco光譜光度計(ThermoSpectronic)。

根據本發明之"on速率"或"締合之速率"或"締合速率"或"k_{on}"亦可用上述相同之表面電漿共振技術，使用如上文所述之BIAcore™-2000或BIAcore™-3000(BIAcore, Inc., Piscataway, NJ)來測定。

如本文所使用，片語"大體上類似"或"大體上相同"表示兩個數值(一般一個與本發明之抗體相關且另一個與參照/比較抗體相關)之間的相似性程度足夠高，以使得熟習此項技術者將認為兩個值之間的差異在由該等值(例如Kd值)所量度之生物學特徵的範圍內幾乎不具有生物學及/或統計學顯著性。該兩個值之間的差異作為參照/比較抗體之值的函數較佳小於約50%，較佳小於約40%，較佳小於約30%，較佳小於約20%，較佳小於約10%。

如本文所使用，片語"大體上降低"或"大體上不同"表示兩個數值(一般一個與本發明之抗體相關且另一個與參照/比較抗體相關)之間的差異程度足夠高，以使得熟習此項技術者將認為兩個值之間的差異在由該等值(例如Kd值，哈馬反應(HAMA response))所量度之生物學特徵的範圍內具有統計學顯著性。該兩個值之間的差異作為參照/比較抗體之值的函數較佳大於約10%，較佳大於約20%，較佳大於約30%，較佳大於約40%，較佳大於約50%。

"抗原"為抗體可選擇性結合之預定抗原。靶抗原可為多肽、碳水化合物、核酸、脂質、半抗原或其他天然存在或合成之化合物。較佳地，靶抗原為多肽。

出於本文之目的，"受體人類構架"為包含源自人類免疫球蛋白構架或源自人類一致構架之VL或VH構架之胺基酸序列的構架。"源自"人類免疫球蛋白構架或人類一致構架之受體人類構架可包含其相同胺基酸序列，或可含有預先存在之胺基酸序列變化。當存在預先存在之胺基酸變化時，存在較佳不超過5個且較佳4個或4個以下或3個或3個以下之預先存在的胺基酸變化。當VH中存在預先存在之胺基酸變化時，較佳為彼等變化僅位於位置71H、73H及78H中之三者、兩者或一者處；例如，彼等位置處之胺基酸殘基可為71A、73T及/或78A。在一實施例中，VL受體人類構架之序列與VL人類免疫球蛋白構架序列或人類一致構架序列一致。

"人類一致構架"為表示人類免疫球蛋白VL或VH構架序列之選擇中最常存在之胺基酸殘基的構架。一般而言，人類免疫球蛋白VL或VH序列之選擇係來自可變域序列之亞群。通常，序列之亞群為根據Kabat等人之亞群。在一實施例中，對於VL而言，該亞群為根據Kabat等人之亞群　κ I。在一實施例中，對於VH而言，該亞群為根據Kabat等人之亞群III。

"VH亞群III一致構架"包含自Kabat等人之可變重鏈亞群III之胺基酸序列獲得的一致序列。在一實施例中，VH亞群III一致構架胺基酸序列包含以下序列中之每一者之至少一部分或全部：EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS(SEQ ID NO: 143)-H1-WVRQAPGKGLEWV(SEQ ID NO: 144)-H2-RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC(SEQ ID NO: 145)-H3-WGQGTLVTVSS(SEQ ID NO: 146)。

"VL亞群I一致構架"包含自Kabat等人之可變輕鏈κ亞群I之胺基酸

序列獲得的一致序列。在一實施例中，VL亞群I一致構架胺基酸序列包含以下序列中之每一者之至少一部分或全部：DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC(SEQ ID NO: 139)-L1-WYQQKPGKAPKLLIY(SEQ ID NO: 140)-L2-GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC(SEQ ID NO: 141)-L3-FGQGTKVEIKR(SEQ ID NO: 142)。

"未經修飾之人類構架"為如下人類構架，其具有與受體人類構架相同之胺基酸序列，例如在該受體人類構架中缺乏人類至非人類胺基酸取代。

出於本文之目的，"經改變之高變區"為包含一或多個(例如1至約16個)胺基酸取代之高變區。

出於本文之目的，"未經修飾之高變區"為如下高變區，其具有與其所源自之非人類抗體相同之胺基酸序列，亦即缺乏一或多個胺基酸取代之高變區。

"結合"所關注抗原(例如腫瘤相關性多肽抗原靶)之抗體為以足夠親和力結合該抗原之抗體，以使得該抗體適用作靶向表現該抗原之細胞或組織之治療劑，且不與其他蛋白質顯著交叉反應。在該等實施例中，抗體與"非靶"蛋白質之結合程度將小於抗體與其特定靶蛋白質之結合的約10%，此如藉由螢光活化細胞分類(FACS)分析或放射免疫沈澱法(RIA)所測定。關於抗體與靶分子之結合，術語"特異性結合"或"特異性地結合於"特定多肽或特定多肽靶上之抗原決定基或對特定多肽或特定多肽靶上之抗原決定基"具特異性"意謂在可量測程度上不同於非特異性相互作用之結合。特異性結合可(例如)藉由測定與對照分子之結合相比的分子之結合來量測，該對照分子一般為不具有結合活性之類似結構之分子。舉例而言，特異性結合可藉由與類似於靶之對照分子(例如過量非標記靶)競爭來測定。在此狀況下，若標記靶與探針之結合受過量未標記靶競爭性地抑制，則表示特異性結合。如本文

所使用，術語"特異性結合"或"特異性地結合於"特定多肽或特定多肽靶上之抗原決定基或對特定多肽或特定多肽靶上之抗原決定基"具特異性"可(例如)由對該靶具有至少約10^{-4} M、或者至少約10^{-5} M、或者至少約10^{-6} M、或者至少約10^{-7} M、或者至少約10^{-8} M、或者至少約10^{-9} M、或者至少約10^{-10} M、或者至少約10^{-11} M、或者至少約10^{-12} M或更大之Kd的分子來展現。在一實施例中，術語"特異性結合"係指分子結合於特定多肽或特定多肽上之抗原決定基但大體上不與任何其他多肽或多肽抗原決定基結合的結合。

"抑制表現CD79b多肽之腫瘤細胞生長"之抗體或"生長抑制性"抗體為導致對於表現或過表現適當CD79b多肽之癌細胞的可量測之生長抑制作用的抗體。CD79b多肽可為表現於癌細胞表面上之跨膜多肽或可為由癌細胞產生且分泌之多肽。與適當對照組相比，較佳之生長抑制性抗-CD79b抗體對於表現CD79b之腫瘤細胞的生長抑制率大於20%，較佳約20%至約50%，且甚至更佳大於50%(例如約50%至約100%)，該對照組通常為未用測試抗體治療之腫瘤細胞。在一實施例中，可於在細胞培養物中約0.1 μg/ml至30 μg/ml或約0.5 nM至200 nM之抗體濃度下量測生長抑制，其中在使腫瘤細胞暴露於抗體後1-10天測定該生長抑制。活體內腫瘤細胞之生長抑制可以多種方式測定，諸如下述實驗實例章節中所描述。若投與約1微克/公斤體重至約100毫克/公斤體重之抗-CD79b抗體導致在距離第一次投與抗體約5天至3個月內(較佳約5天至30天內)腫瘤尺寸減小或腫瘤細胞增生減少，則該抗體具活體內生長抑制性。

"誘發細胞凋亡"之抗體為如藉由膜聯蛋白V(annexin V)之結合、DNA之斷裂、細胞收縮、內質網之擴張、細胞斷裂及/或膜囊(稱為細胞凋亡體)之形成所確定誘發漸進式細胞死亡的抗體。該細胞通常為過表現CD79b多肽之細胞。較佳地，該細胞為腫瘤細胞，例如造血細

胞，諸如B細胞、T細胞、嗜鹼性球、嗜伊紅血球、嗜中性白血球、單核細胞、血小板或紅血球。各種方法可用於評估與細胞凋亡相關之細胞事件。舉例而言，磷脂醯絲胺酸(PS)易位可藉由膜聯蛋白結合來量測；DNA斷裂可經由DNA條帶(DNA laddering)來評估；且核/染色質凝集以及DNA斷裂可藉由亞二倍體細胞之任何增加來評估。較佳地，誘發細胞凋亡之抗體為在膜聯蛋白結合檢定中導致膜聯蛋白結合之誘發相對於未經處理之細胞為約2至50倍、較佳約5至50倍且最佳約10至50倍的抗體。

"誘發細胞死亡"之抗體為使得活細胞變得不能存活之抗體。該細胞為表現CD79b多肽且為特異性表現或過表現CD79b多肽之細胞類型的細胞。該細胞可為特定細胞類型之癌細胞或正常細胞。CD79b多肽可為表現於癌細胞表面上之跨膜多肽或可為由癌細胞產生且分泌之多肽。細胞可為癌細胞，例如B細胞或T細胞。活體外細胞死亡可在補體及免疫效應細胞不存在之情況下確定以區別由抗體依賴性細胞介導細胞毒性(ADCC)或補體依賴性細胞毒性(CDC)誘發之細胞死亡。因此，對於細胞死亡之檢定可使用熱滅活血清(亦即，在補體不存在之情況下)且在免疫效應細胞不存在之情況下執行。為確定抗體是否能夠誘發細胞死亡，如藉由攝取碘化丙啶(PI)、錐蟲藍(參見Moore等人，**Cytotechnology** 17:1-11 (1995))或7AAD所評估之膜完整性之損失可相對於未經處理之細胞進行評估。較佳之細胞死亡誘發抗體為在PI攝取檢定中於BT474細胞中誘發PI攝取之彼等抗體。

抗體"效應功能"係指可歸因於抗體之Fc區(天然序列Fc區或胺基酸序列變異Fc區)之彼等生物活性，且隨抗體同型而變化。抗體效應功能之實例包括：C1q結合及補體依賴性細胞毒性；Fc受體結合；抗體依賴性細胞介導細胞毒性(ADCC)；吞噬作用；細胞表面受體(例如B細胞受體)之下調；及B細胞活化。

本文中術語"Fc區"係用於定義免疫球蛋白重鏈之C末端區域，包括天然序列Fc區及變異Fc區。儘管免疫球蛋白重鏈之Fc區之邊界可變化，但人類IgG重鏈Fc區通常係定義為自位置Cys226處之胺基酸殘基或自Pro230延伸至其羧基末端。Fc區之C末端離胺酸(根據EU編號系統為殘基447)可(例如)在產生或純化抗體期間加以移除，或藉由重組工程化編碼抗體之重鏈之核酸來移除。因此，完整抗體之組合物可包含所有K447殘基被移除之抗體群體、K447殘基未被移除之抗體群體及具有含有K447殘基之抗體與無K447殘基之抗體之混合物的抗體群體。

"功能性Fc區"具有天然序列Fc區之"效應功能"。例示性 "效應功能"包括C1q結合；CDC；Fc受體結合；ADCC；吞噬作用；細胞表面受體(例如B細胞受體；BCR)之下調等。該等效應功能一般需要Fc區與結合域(例如抗體可變域)組合且可使用例如本文定義中所揭示之各種檢定來評估。

"天然序列Fc區"包含與自然界中所見之Fc區之胺基酸序列一致的胺基酸序列。天然序列人類Fc區包括天然序列人類IgG1 Fc區(非A及A異型)；天然序列人類IgG2 Fc區；天然序列人類IgG3 Fc區；及天然序列人類IgG4 Fc區，以及其天然存在之變異體。

"變異Fc區"包含由於至少一個胺基酸修飾、較佳一或多個胺基酸取代而不同於天然序列Fc區之胺基酸序列的胺基酸序列。較佳地，與天然序列Fc區或親本多肽之Fc區相比，該變異Fc區在天然序列Fc區中或在親本多肽之Fc區中具有至少一個胺基酸取代，例如約1個至約10個胺基酸取代，且較佳約1個至約5個胺基酸取代。本文中之變異Fc區將較佳與天然序列Fc區及/或與親本多肽之Fc區具有至少約80%同源性，且最佳與其具有至少約90%同源性，更佳與其具有至少約95%同源性。

"抗體依賴性細胞介導細胞毒性"或"ADCC"係指細胞毒性之一種形式，其中結合於存在於某些細胞毒性細胞(例如，自然殺手(NK)細胞、嗜中性白血球及巨噬細胞)上的Fc受體(FcR)上之分泌性Ig使此等細胞毒性效應細胞能夠與帶有抗原之靶細胞特異性結合且隨後用細胞毒素殺死該靶細胞。抗體"武裝"細胞毒性細胞且為該殺死絕對所需。介導ADCC之初級細胞，即NK細胞僅表現FcγRIII，而單核細胞表現FcγRI、FcγRII及FcγRIII。造血細胞上之FcR表現係概述於Ravetch及Kinet, **Annu. Rev. Immunol.** 9:457-92 (1991)之第464頁之表3中。為評估所關注分子之ADCC活性，可執行活體外ADCC檢定，諸如美國專利第5,500,362號或第5,821,337號中所述之檢定。適用於該等檢定之效應細胞包括周邊血液單核細胞(PBMC)及自然殺手(NK)細胞。或者或另外，所關注分子之ADCC活性可在活體內評估，例如在諸如Clynes等人，(USA) 95:652-656 (1998)中所揭示之動物模型中。

"Fc受體"或"FcR"描述結合於抗體之Fc區之受體。較佳FcR為天然序列人類FcR。此外，較佳FcR為結合IgG抗體(γ受體)且包括FcγRI、FcγRII及FcγRIII亞類之受體的FcR，包括對偶基因變異體及此等受體之替代性拼接形式。FcγRII受體包括FcγRIIA("活化受體")及FcγRIIB("抑制受體")，其具有主要其細胞質域不同之類似胺基酸序列。活化受體FcγRIIA在其細胞質域中含有基於免疫受體酪胺酸之活化基元(ITAM)。抑制受體FcγRIIB在其細胞質域中含有基於免疫受體酪胺酸之抑制基元(ITIM)。(參見Daëron, **Annu. Rev. Immunol.** 15:203-234 (1997)中之綜述，M.)。FcR係於Ravetch及Kinet, **Annu. Rev. Immunol.** 9:457-492 (1991)；Capel等人，**Immunomethods** 4:25-34 (1994)；及de Haas等人，**J. Lab. Clin. Med.** 126:330-41 (1995)中有評述。包括有待以後鑑別之彼等者的其他FcR為本文中之術語"FcR"所涵蓋。該術語亦包括新生兒受體FcRn，其引起母IgG轉移至胎兒

(Guyer等人，**J. Immunol.** 117:587 (1976)及Kim等人，**J. Immunol.** 24:249 (1994))。

可(例如)在表現人類FcRn之轉殖基因小鼠或經轉染人類細胞株中，或在投與具有變異Fc區之多肽之靈長類動物中檢定人類FcRn高親和力結合多肽活體內與人類FcRn之結合及血清半衰期。WO 2000/42072(Presta)描述與FcR之結合得到改善或減少之抗體變異體。亦參見(例如)Shields等人，*J. Biol. Chem.* 9(2):6591-6604 (2001)。

"人類效應細胞"為表現一或多個FcR且執行效應功能之白血球。較佳地，該等細胞至少表現FcγRIII且執行ADCC效應功能。介導ADCC之人類白血球的實例包括周邊血液單核細胞(PBMC)、自然殺手(NK)細胞、單核細胞、細胞毒性T細胞及嗜中性白血球；其中PBMC及NK細胞為較佳。效應細胞可自天然來源分離，例如自血液分離。

"補體依賴性細胞毒性"或"CDC"係指在補體存在下靶細胞之溶解。典型補體路徑之活化係由補體系統之第一組份(C1q)與(適當亞類之)與同源抗原結合之抗體的結合而引起。為評估補體活化，可執行CDC檢定，例如Gazzano-Santoro等人，**J. Immunol. Methods** 202:163 (1996)中所述。Fc區胺基酸序列發生改變(具有變異Fc區之多肽)且C1q結合能力得到增強或降低之多肽變異體係(例如)描述於美國專利第6,194,551 B1號及WO 1999/51642中。亦參見例如Idusogie等人，J. Immunol. 164: 4178-4184 (2000)。

術語"包含Fc區之抗體"係指包含Fc區之抗體。Fc區之C末端離胺酸(根據EU編號系統為殘基447)可(例如)在純化抗體期間加以移除，或藉由重組工程化編碼抗體之核酸來移除。因此，根據本發明之包含具有Fc區之抗體的組合物可包含具有K447之抗體、所有K447被移除之抗體或具有K447殘基之抗體與無K447殘基之抗體之混合物。

CD79b多肽"細胞外域"或"ECD"係指基本上不含跨膜域及細胞質

域之CD79b多肽之一種形式。通常，CD79b多肽ECD將具有不到1%之該等跨膜域及/或細胞質域且較佳將具有不到0.5%之該等域。應瞭解，對於本發明之CD79b多肽鑑別之任何跨膜域係按照此項技術中常被用於鑑別疏水性域之類型之標準來鑑別。跨膜域之準確邊界可如本文中最初所鑑別於該域之任一末端處變化(但很可能)最多不超過約5個胺基酸。因此，視情況，CD79b多肽之細胞外域可如實例或說明書中所鑑別於跨膜域/細胞外域邊界之任一側上含有約5個或以下之胺基酸，且本發明涵蓋具有相關信號肽或無相關信號肽之該等多肽及編碼其之核酸。

本文所揭示之CD79b多肽之"信號肽"的近似位置可展示於本發明之說明書及/或附圖中。然而，應注意，信號肽之C末端邊界可如本文中最初所鑑別於信號肽C末端邊界之任一側上變化(但很可能)最多不超過約5個胺基酸，其中信號肽之C末端邊界可按照此項技術中常被用於鑑別胺基酸序列元件之類型之標準來鑑別(例如，Nielsen等人，**Prot. Eng.** 10:1-6 (1997)及von Heinje等人，**Nucl. Acids. Res.** 14:4683-4690 (1986))。此外，亦認識到在一些情況下，信號序列自分泌性多肽之裂解並非完全均勻，從而產生多於一種分泌物質。本發明涵蓋此等成熟多肽(其中如本文所鑑別，信號肽在信號肽之C末端邊界之任一側上最多不超過約5個胺基酸內發生裂解)及編碼其之聚核苷酸。

"CD79b多肽變異體"意謂如本文所定義與如本文所揭示之全長天然序列CD79b多肽序列、缺乏如本文所揭示之信號肽之CD79b多肽序列、具有或無如本文所揭示之信號肽之CD79b多肽的細胞外域或如本文所揭示之全長CD79b多肽序列之任何其他片段(諸如由僅為全長CD79b多肽之完整編碼序列之一部分的核酸編碼之彼等者)具有至少約80%胺基酸序列一致性的CD79b多肽，較佳為活性CD79b多肽。該等CD79b多肽變異體包括(例如)於全長天然胺基酸序列之N或C末端處

添加或刪除一或多個胺基酸殘基之CD79b多肽。通常，CD79b多肽變異體將與如本文所揭示之全長天然序列CD79b多肽序列、缺乏如本文所揭示之信號肽之CD79b多肽序列、具有或無如本文所揭示之信號肽之CD79b多肽的細胞外域或如本文所揭示之全長CD79b多肽序列的任何其他經具體定義之片段具有至少約80%胺基酸序列一致性，或者至少約81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性。通常，CD79b變異多肽之長度為至少約10個胺基酸，或者長度為至少約20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、370、380、390、400、410、420、430、440、450、460、470、480、490、500、510、520、530、540、550、560、570、580、590、600個胺基酸，或更長。視情況，CD79b變異多肽將具有與天然CD79b多肽序列相比不超過一個的保守性胺基酸取代，或者具有與天然CD79b多肽序列相比不超過2、3、4、5、6、7、8、9或10個的保守性胺基酸取代。

關於肽或多肽序列(亦即本文中所鑑別之CD79b多肽序列)之"胺基酸序列一致性百分數(%)"係定義為在比對序列且必要時引入缺口以達成最大序列一致性百分數且不將任何保守性取代視作序列一致性之一部分後，候選序列中與特定肽或多肽序列(亦即CD79b多肽序列)中之胺基酸殘基一致之胺基酸殘基的百分數。出於測定胺基酸序列一致性百分數之目的，比對可以屬於此項技術技能範圍內之多種方式達成，例如使用公開可得到之電腦軟體，諸如BLAST、BLAST-2、ALIGN或Megalign(DNASTAR)軟體。為量測比對，熟習此項技術者可確定適當參數，包括在正進行比較的序列之全長上達成最大比對所需之任何演

算法。然而，出於本文之目的，使用序列比較電腦程式ALIGN-2產生胺基酸序列一致性%值，其中ALIGN-2程式之完整原始碼在下文表1中提供。ALIGN-2序列比較電腦程式係由Genentech, Inc.創造且下文表1中所示之原始碼已在美國版權局(U.S. Copyright Office)(Washington D.C.，20559)與用戶文件一起備案，在美國版權局其以美國版權登記號TXU510087登記。ALIGN-2程式可公開經由Genentech, Inc.(South San Francisco, California)得到或可由下文表1中提供之原始碼編譯。ALIGN-2程式應經編譯以於UNIX操作系統、較佳數位UNIX V4.0D上使用。所有序列比較參數係藉由ALIGN-2程式設定且並不變化。

在利用ALIGN-2進行胺基酸序列比較之情況下，如下計算特定胺基酸序列A與特定胺基酸序列B之胺基酸序列一致性%(其或者可表述為特定胺基酸序列A與特定胺基酸序列B具有或包含某一胺基酸序列一致性%)：

100×(X/Y)

其中X為在A與B之序列比對程式ALIGN-2比對中由該程式評定為一致匹配之胺基酸殘基的數目，且其中Y為B之胺基酸殘基的總數。應瞭解，當胺基酸序列A之長度不等於胺基酸序列B之長度時，A與B之胺基酸序列一致性%不會等於B與A之胺基酸序列一致性%。

"CD79b變異聚核苷酸"或"CD79b變異核酸序列"意謂編碼如本文所定義之CD79b多肽、較佳為活性CD79b多肽且與編碼如本文所揭示之全長天然序列CD79b多肽序列、缺乏如本文所揭示之信號肽之全長天然序列CD79b多肽序列、具有或無如本文所揭示之信號肽之CD79b多肽的細胞外域或如本文所揭示之全長CD79b多肽序列之任何其他片段(諸如由僅為全長CD79b多肽之完整編碼序列之一部分的核酸編碼之彼等者)的核苷酸酸序列具有至少約80%核酸序列一致性之核酸分

子。通常，CD79b變異聚核苷酸將與編碼如本文所揭示之全長天然序列CD79b多肽序列、缺乏如本文所揭示之信號肽之全長天然序列CD79b多肽序列、具有或無如本文所揭示之信號序列之CD79b多肽的細胞外域或如本文所揭示之全長CD79b多肽序列之任何其他片段的核酸序列具有至少約80%核酸序列一致性，或者至少約81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%核酸序列一致性。變異體並不包含天然核苷酸序列。

通常，CD79b變異聚核苷酸之長度為至少約5個核苷酸，或者長度為至少約6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、105、110、115、120、125、130、135、140、145、150、155、160、165、170、175、180、185、190、195、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、370、380、390、400、410、420、430、440、450、460、470、480、490、500、510、520、530、540、550、560、570、580、590、600、610、620、630、640、650、660、670、680、690、700、710、720、730、740、750、760、770、780、790、800、810、820、830、840、850、860、870、880、890、900、910、920、930、940、950、960、970、980、990或1000個核苷酸，其中就此而言術語"約"意謂參考核苷酸序列長度加上或減去彼參考長度之10%。

關於本文中所鑑別之編碼CD79b之核酸序列的"核酸序列一致性百分數(%)"係定義為在比對序列且必要時引入缺口以達成最大序列一致性百分數後，候選序列中與所關注之CD79b核酸序列中之核苷酸一致的核苷酸之百分數。出於測定核酸序列一致性百分數之目的，比對

可以屬於此項技術技能範圍內之多種方式達成，例如使用公開可得到之電腦軟體，諸如BLAST、BLAST-2、ALIGN或Megalign (DNASTAR)軟體。然而，出於本文之目的，使用序列比較電腦程式ALIGN-2產生核酸序列一致性%值，其中ALIGN-2程式之完整原始碼在下文表1中提供。ALIGN-2序列比較電腦程式係由Genentech, Inc.創造且下文表1中所示之原始碼已在美國版權局(U.S. Copyright Office)(Washington D.C.，20559)與用戶文件一起備案，在美國版權局其以美國版權登記號TXU510087登記。ALIGN-2程式可公開經由Genentech, Inc.(South San Francisco, California)得到或可由下文表1中提供之原始碼編譯。ALIGN-2程式應經編譯以於UNIX操作系統、較佳數位UNIX V4.0D上使用。所有序列比較參數係藉由ALIGN-2程式設定且並不變化。

在利用ALIGN-2進行核酸序列比較之情況下，如下計算特定核酸序列C與特定核酸序列D之核酸序列一致性%(其或者可表述為特定核酸序列C與特定核酸序列D具有或包含某一核酸序列一致性%)：

100×(W/Z)

其中W為在C與D之序列比對程式ALIGN-2比對中由該程式評定為一致匹配之核苷酸的數目，且其中Z為D之核苷酸的總數。應瞭解，當核酸序列C之長度不等於核酸序列D之長度時，C與D之核酸序列一致性%不會等於D與C之核酸序列一致性%。除非另外特別規定，否則本文中所使用之所有核酸序列一致性%值係如剛剛前段中所述使用ALIGN-2電腦程式獲得。

在其他實施例中，CD79b變異聚核苷酸為編碼CD79b多肽且較佳在嚴格雜交及洗滌條件下能夠與編碼如本文所揭示之全長CD79b多肽的核苷酸序列雜交之核酸分子。CD79b變異多肽可為由CD79b變異聚核苷酸編碼之彼等者。

術語"全長編碼區"在關於編碼CD79b多肽之核酸使用時係指編碼本發明之全長CD79b多肽的核苷酸序列(其在附圖中常常被展示介於起始密碼子與終止密碼子(包括起始密碼子與終止密碼子)之間)。術語"全長編碼區"在關於ATCC寄存核酸使用時係指插入寄存於ATCC之載體中之cDNA的CD79b多肽編碼部分(其在附圖中常常被展示介於起始密碼子與終止密碼子(包括起始密碼子與終止密碼子)之間(起始密碼子及終止密碼子在圖中為粗體且加下劃線))。

"經分離"在用於描述本文所揭示之各種CD79b多肽時意謂已自自然環境之組份中鑑別且分離及/或回收的多肽。其自然環境之污染物組份為通常會干擾多肽之治療用途之物質，且可包括酶、激素及其他蛋白質性或非蛋白質性溶質。在較佳實施例中，多肽將被純化(1)至足以藉由使用轉杯式測序儀獲得N末端或內部胺基酸序列之至少15個殘基的程度；或(2)至藉由SDS-PAGE在非還原或還原條件下使用庫馬斯藍或較佳銀染色得知之均質性。經分離之多肽包括重組細胞內之原位多肽，此係因為CD79b多肽自然環境中之至少一個組份將不會存在。然而，經分離之多肽通常將藉由至少一個純化步驟來製備。

"經分離之"CD79b多肽編碼核酸或其他多肽編碼核酸為自其通常在多肽編碼核酸之自然來源中所締合的至少一種污染物核酸分子中鑑別及分離之核酸分子。經分離之多肽編碼核酸分子在形式或背景方面不同於自然界中所見。因此，經分離之多肽編碼核酸分子有別於存在於自然細胞中之特定的多肽編碼核酸分子。然而，經分離之多肽編碼核酸分子包括包含於通常表現該多肽之細胞中的多肽編碼核酸分子，其中例如核酸分子位於不同於自然細胞之染色體位置處。

術語"控制序列"係指在特定宿主有機體中表現可操作連接之編碼序列所必需的DNA序列。適合於原核生物之控制序列(例如)包括啟動子，視情況包括操縱子序列及核糖體結合位點。已知真核細胞利用啟

動子、多聚腺嘌呤信號及增強子。

當使核酸與另一核酸序列功能相關時，該核酸被"可操作地連接"。舉例而言，前序列(presequence)或分泌性前導序列之DNA若其被表現為參與多肽之分泌的前體蛋白質則被可操作地連接於多肽之DNA；啟動子或增強子若其影響編碼序列之轉錄則被可操作地連接於該編碼序列；或核糖體結合位點若其經定位而有助於轉譯則被可操作地連接於編碼序列。一般而言，"可操作地連接"意謂所連接之DNA序列為鄰接的，且在分泌性前導序列之情況下為鄰接的及處於閱讀階段。然而，增強子不必為鄰接的。藉由接合於適宜限制性位點處來實現連接。若該等位點不存在，則根據習知作法使用合成寡核苷酸接頭或連接子。

雜交反應之"嚴格性"可容易地由一般熟習此項技術者確定，且一般為視探針長度、洗滌溫度及鹽濃度而定之經驗計算。一般而言，為了恰當退火，較長探針需要較高溫度，而較短探針需要較低溫度。雜交一般視變性DNA在互補股存在於低於其熔融溫度之環境中時再退火之能力而定。探針與可雜交序列之間的所要同源性之程度愈高，可使用之相對溫度愈高。因此，由此可見，較高相對溫度將會傾向於使反應條件更嚴格，而較低溫度較少如此。關於雜交反應之嚴格性之其他詳情及解釋，參見Ausubel等人，**Current Protocols in Molecular Biology**, Wiley Interscience Publishers, (1995)。

如本文所定義之"嚴格條件"或"高嚴格性條件"可由下述方式來確定：(1)利用低離子強度及高溫進行洗滌，例如於50℃下，0.015 M氯化鈉/ 0.0015 M檸檬酸鈉/0.1%十二烷基硫酸鈉；(2)在雜交期間利用變性劑，諸如甲醯胺，例如於42℃下，50%(v/v)甲醯胺及0.1%牛血清白蛋白/0.1%菲科爾(Ficoll)/0.1%聚乙烯吡咯啶酮/50 mM磷酸鈉緩衝劑(pH 6.5)及750 mM氯化鈉、75 mM檸檬酸鈉；或(3)於42℃下在使用

50%甲醯胺、5×SSC(0.75 M NaCl、0.075 M檸檬酸鈉)、50 mM磷酸鈉(pH 6.8)、0.1%焦磷酸鈉、5×Denhardt溶液(Denhardt's solution)、經超音波處理之鮭魚精DNA(50 μg/ml)、0.1% SDS及10%硫酸葡聚糖之溶液中隔夜雜交，其中於42℃下以0.2×SSC(氯化鈉/檸檬酸鈉)洗滌10分鐘，接著為於55℃下由0.1×含有EDTA之SSC組成之10分鐘高嚴格性洗滌。

"適度嚴格條件"可如Sambrook等人，**Molecular Cloning: A Laboratory Manual**, New York: Cold Spring Harbor Press, 1989所述來確定，且包括使用嚴格性低於上述彼等者之洗滌溶液及雜交條件(例如溫度、離子強度及%SDS)。適度嚴格條件之一實例為於37℃下在包含20%甲醯胺、5×SSC(150 mM NaCl、15 mM檸檬酸三鈉)、50 mM磷酸鈉(pH 7.6)、5×Denhardt溶液、10%硫酸葡聚糖及20 mg/ml變性剪切鮭魚精DNA之溶液中隔夜培養，接著於約37-50℃下以1×SSC洗滌過濾器。熟習技術者將認識到如何按需要調整溫度、離子強度等以適應諸如探針長度及其類似者之因素。

術語"抗原決定基標記"當在本文中使用時係指包含與"標記多肽"融合之CD79b多肽或抗-CD79b抗體的嵌合多肽。該標記多肽具有足夠殘基來提供抗體產生所針對之抗原決定基，但又足夠短以至於其不會干擾其所融合之多肽之活性。標記多肽較佳亦為相當獨特的以至於抗體大體上不與其他抗原決定基交叉反應。合適之標記多肽一般具有至少6個胺基酸殘基且通常具有約8個與50個之間的胺基酸殘基數(較佳約10個與20個之間的胺基酸殘基數)。

出於本文之目的，"活性"係指保持天然或天然存在之CD79b之生物及/或免疫活性的CD79b多肽之形式，其中 "生物"活性係指由天然或天然存在之CD79b引起之生物學功能(抑制或刺激)，其不同於誘發產生針對由天然或天然存在之CD79b所具有之抗原性抗原決定基的抗

體之能力，且"免疫"活性係指誘發產生針對由天然或天然存在之CD79b所具有之抗原性抗原決定基的抗體之能力。

術語"拮抗劑"係在最廣泛意義上加以使用且包括部分或完全阻斷、抑制或中和天然CD79b多肽之生物活性的任何分子。以類似方式，術語"促效劑"係在最廣泛意義上加以使用且包括模擬天然CD79b多肽之生物活性的任何分子。合適之促效劑或拮抗劑分子特定地包括促效劑或拮抗劑抗體或抗體片段、天然CD79b多肽之片段或胺基酸序列變異體、肽、反義寡核苷酸、小有機分子等。鑑別CD79b多肽之促效劑或拮抗劑之方法可包含使CD79b多肽與候選促效劑或拮抗劑分子接觸且量測一或多種通常與CD79b多肽相關之生物活性之可偵測變化。

"經純化"意謂分子係以含有該分子之樣品中至少95重量%或至少98重量%的濃度存在於該樣品中。

"經分離之"核酸分子為自其通常(例如)於其自然環境中所締合之至少一種其他核酸分子中分離的核酸分子。經分離之核酸分子進一步包括包含於通常表現該核酸分子之細胞中的核酸分子，但該核酸分子存在於染色體外或存在於不同於自然染色體位置之染色體位置處。

如本文所使用，術語"載體"意欲指能夠輸送其所連接之另一核酸的核酸分子。一種類型之載體為"質體"，其係指其他DNA區段可連接之環狀雙股DNA環。另一種類型之載體為噬菌體載體。另一種類型之載體為病毒載體，其中其他DNA區段可連接於病毒基因組中。某些載體能夠在引入其之宿主細胞中自主複製(例如，具有細菌複製起點之細菌載體及游離型哺乳動物載體)。其他載體(例如，非游離型哺乳動物載體)可在引入宿主細胞中後整合至宿主細胞之基因組中，且藉此與宿主基因組一起複製。此外，某些載體能夠引導其可操作地連接之基因的表現。該等載體在本文中稱為"重組表現載體"(或簡稱為"重組

載體")。一般而言，重組DNA技術中具有效用之表現載體常常呈質體之形式。在本說明書中，"質體"及"載體"可互換使用，此係因為質體為最常用之載體形式。

如本文中可互換使用之"聚核苷酸"或"核酸"係指任何長度之核苷酸之聚合物，且包括DNA及RNA。核苷酸可為脫氧核糖核苷酸、核糖核苷酸、經修飾之核苷酸或鹼基及/或其類似物，或可藉由DNA或RNA聚合酶或藉由合成反應併入聚合物中之任何受質。聚核苷酸可包含經修飾之核苷酸，諸如甲基化核苷酸及其類似物。若存在，則可在聚合物組裝之前或之後給予對核苷酸結構之修飾。核苷酸之序列可為非核苷酸組分所穿插。可在合成後進一步修飾聚核苷酸，諸如藉由與標記共軛來修飾。其他類型之修飾包括(例如)"帽子"；用類似物取代天然存在之核苷酸中之一或多者；核苷酸間修飾，諸如具有不帶電鍵之修飾(例如，膦酸甲酯、磷酸三酯、磷醯胺酸酯、胺基甲酸酯等)及具有帶電鍵之修飾(例如，硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯等)、含有側位部分之修飾(諸如蛋白質，例如核酸酶、毒素、抗體、信號肽、聚-L-離胺酸等)、具有嵌入劑之修飾(例如，吖啶、補骨脂素等)、含有螯合劑之修飾(例如，金屬、放射性金屬、硼、氧化金屬等)、含有烷基化劑之修飾、具有經修飾之鍵的修飾(例如，α-變旋異構核酸等)，以及未經修飾形式之聚核苷酸。此外，通常存在於糖中之羥基之任一者可(例如)經膦酸酯基、磷酸酯基置換，經標準保護基保護，或經活化以製備連接其他核苷酸之其他鍵，或可與固體或半固體支撐物共軛。5'及3'末端OH可經磷酸化或經胺或具有1至20個碳原子之有機封端基團部分取代。其他羥基亦可衍生為標準保護基。聚核苷酸亦可含有此項技術中一般已知之類似形式之核糖或脫氧核糖，包括(例如)2'-O-甲基-核糖、2'-O-烯丙基核糖、2'-氟-核糖或2'-疊氮基-核糖、碳環糖類似物、α-變旋異構糖、差向異構糖(諸如，阿拉伯糖、木糖或來蘇糖)、

哌喃醣、呋喃醣、景天庚酮糖(sedoheptulose)、非環狀類似物及無鹼基核苷類似物(諸如甲基核糖核苷)。一或多個磷酸二酯鍵可經替代性鍵聯基團置換。此等替代性鍵聯基團包括(但不限於)磷酸酯經P(O)S("硫代酸酯")、P(S)S("二硫代酸酯")、(O)NR_2("醯胺酸酯")、P(O)R、P(O)OR'、CO或CH_2("甲縮醛")置換之實施例，其中R或R'各自獨立地為H或經取代或未經取代之視情況含有醚(-O-)鍵的烷基(1-20個C)、芳基、烯基、環烷基、環烯基或芳烷基。並不需要聚核苷酸中之所有鍵均相同。前面描述適用於本文提及之所有聚核苷酸，包括RNA及DNA。

如本文所使用，"寡核苷酸"一般係指一般單股、一般為合成之短聚核苷酸，其長度一般(但未必)小於約200個核苷酸。術語"寡核苷酸"及"聚核苷酸"並不互相排斥。上文關於聚核苷酸之描述同樣且完全適用於寡核苷酸。

術語"癌症"及"癌性"係指或描述哺乳動物之通常特徵為不受調節之細胞生長的生理病狀。癌症之實例包括(但不限於)造血癌或血液相關癌症，諸如淋巴瘤、白血病、骨髓瘤或淋巴惡性腫瘤，以及脾之癌症及淋巴結之癌症，以及癌瘤、胚細胞瘤及肉瘤。癌症之更特定實例包括B細胞相關癌症，包括例如高度、中度及低度淋巴瘤(包括B細胞淋巴瘤，諸如黏膜相關淋巴組織B細胞淋巴瘤及非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、套細胞淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤、小淋巴細胞性淋巴瘤、邊緣區淋巴瘤、瀰漫性大細胞淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤及霍奇金氏淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma)及T細胞淋巴瘤)及白血病(包括繼發性白血病、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)(諸如B細胞白血病(CD5+ B淋巴細胞))、骨髓性白血病(諸如急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病)、淋巴細胞性白血病(諸如急性淋巴母細胞性白血病(ALL))及脊髓發育不良)以及其他血液學癌症及/或B細胞或T細胞相關癌症。亦包括其他造血細

胞之癌症，該等其他造血細胞包括多形核白血球(諸如嗜鹼性球、嗜伊紅血球、嗜中性白血球)及單核細胞、樹突狀細胞、血小板、紅血球及自然殺手細胞。亦包括選自下列疾病之癌性B細胞增生性病症：淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、侵襲性NHL、復發性侵襲性NHL、復發性惰性NHL、難治性NHL、難治性惰性NHL、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、小淋巴細胞性淋巴瘤、白血病、毛細胞白血病(HCL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)及套細胞淋巴瘤。B細胞癌症之來源包括如下：邊緣區B細胞淋巴瘤起源於邊緣區中之記憶B細胞；濾泡性淋巴瘤及彌漫性大B細胞淋巴瘤起源於生發中心之亮區中之中心細胞(centrocyte)；慢性淋巴細胞性白血病及小淋巴細胞性白血病起源於B1細胞(CD5+)；套細胞淋巴瘤起源於套區中之初始B細胞；及伯基特氏淋巴瘤起源於生發中心之暗區中之中心母細胞(centroblast)。包括造血細胞之組織(在本文中稱為"造血細胞組織")包括胸腺及骨髓及周邊淋巴組織，諸如脾、淋巴結、與黏膜相關之淋巴組織，諸如腸相關淋巴組織、扁桃體、派伊爾斑(Peyer's patch)及闌尾，及與其他黏膜相關之淋巴組織，例如支氣管襯裏。該等癌症之其他特定實例包括鱗狀細胞癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺之腺癌、肺之鱗狀癌、腹膜癌、肝細胞癌、胃腸癌、胰腺癌、神經膠質瘤、子宮頸癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、肝瘤、乳腺癌、結腸癌、結腸直腸癌、子宮內膜癌或子宮癌、唾液腺癌、腎癌、肝癌、前列腺癌、外陰癌、甲狀腺癌、肝癌、白血病及其他淋巴組織增生性病症，以及各種類型之頭頸部癌。

"B細胞惡性腫瘤"在本文中包括非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)，包括低度/濾泡性NHL、小淋巴細胞性(SL)NHL、中度/濾泡性NHL、中度彌漫性NHL、高度免疫母細胞性NHL、高度淋巴母細胞性NHL、高度小無裂細胞NHL、巨瘤NHL、套細胞淋巴瘤、AIDS相關淋巴瘤及瓦

爾登斯特倫巨球蛋白血症(Waldenstrom's Macroglobulinemia)、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、淋巴細胞為主型霍奇金病(lymphocyte predominant Hodgkin's disease，LPHD)、小淋巴細胞性淋巴瘤(SLL)、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、惰性NHL(包括復發性惰性NHL及利妥昔單抗(rituximab)難治性惰性NHL)；白血病，包括急性淋巴母細胞性白血病(ALL)、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、毛細胞白血病、慢性骨髓母細胞性白血病；套細胞淋巴瘤；及其他血液學惡性腫瘤。該等惡性腫瘤可用針對B細胞表面標記(諸如CD79b)之抗體來治療。本文中預期藉由投與針對B細胞表面標記(諸如CD79b)之抗體來治療該等疾病，且包括投與非共軛("裸")抗體或與如本文所揭示之細胞毒性劑共軛之抗體。本文中亦預期藉由包括本發明之抗-CD79b抗體或抗-CD79b抗體藥物共軛物與同時或連續投與之另一抗體或抗體藥物共軛物、另一細胞毒性劑、放射治療或其他治療之組合的組合療法來治療該等疾病。在本發明之例示性治療方法中，將本發明之抗-CD79b抗體與抗-CD20抗體、免疫球蛋白或其CD20結合片段組合同時或依序投與。該抗-CD20抗體可為裸抗體或抗體藥物共軛物。在組合療法之一實施例中，抗-CD79b抗體為本發明之抗體且抗-CD20抗體為Rituxan®(利妥昔單抗)。

如本文所使用，術語"非霍奇金氏淋巴瘤"或"NHL"係指淋巴系統之不同於霍奇金氏淋巴瘤之癌症。霍奇金氏淋巴瘤與非霍奇金氏淋巴瘤之不同之處一般可在於霍奇金氏淋巴瘤中存在里-斯二氏細胞(Reed-Sternberg cell)，而非霍奇金氏淋巴瘤中不存在該等細胞。由如本文所使用之該術語所涵蓋的非霍奇金氏淋巴瘤之實例包括將同樣由熟習此項技術者(例如腫瘤學家或病理學家)根據此項技術中已知之分類方案所鑑別的任何非霍奇金氏淋巴瘤，該等分類方案諸如Color Atlas of Clinical Hematology(第3版)，A. Victor Hoffbrand及John E. Pettit (編)

(Harcourt Publishers Ltd., 2000)中所述之修訂歐美淋巴瘤(Revised European-American Lymphoma，REAL)方案。尤其參見圖11.57、11.58及11.59中之列舉。更具體的實例包括(但不限於)復發性或難治性NHL、前線低度NHL、第III/IV期NHL、化療抗性NHL、前驅B淋巴母細胞白血病及/或淋巴瘤、小淋巴細胞性淋巴瘤、B細胞慢性淋巴細胞性白血病及/或前淋巴細胞性白血病及/或小淋巴細胞性淋巴瘤、B細胞前淋巴細胞性淋巴瘤、免疫細胞瘤及/或淋巴漿細胞淋巴瘤、淋巴漿細胞淋巴瘤、邊緣區B細胞淋巴瘤、脾邊緣區淋巴瘤、結外邊緣區MALT淋巴瘤、結邊緣區淋巴瘤、毛細胞白血病、漿細胞瘤及/或漿細胞骨髓瘤、低度/濾泡性淋巴瘤、中度/濾泡性NHL、套細胞淋巴瘤、濾泡中心淋巴瘤(濾泡性)、中度彌漫性NHL、彌漫性大B細胞淋巴瘤、侵襲性NHL(包括侵襲性前線NHL及侵襲性復發性NHL)、自體幹細胞移植後復發或難治之NHL、原發性縱隔大B細胞淋巴瘤、原發性滲出性淋巴瘤、高度免疫母細胞性NHL、高度淋巴母細胞性NHL、高度小無裂細胞NHL、巨瘤NHL、伯基特氏淋巴瘤、前驅(周邊)大顆粒淋巴細胞性白血病、蕈樣真菌病及/或賽謝症候群(Sezary syndrome)、皮膚(皮膚性)淋巴瘤、多形性大細胞淋巴瘤、血管中心性淋巴瘤。

"病症"為將受益於用本發明之物質/分子或方法治療之任何病狀。此包括慢性及急性病症或疾病，包括使哺乳動物易於罹患所述病症之彼等病理病狀。本文中所治療之病症之非限制性實例包括癌性病狀，諸如惡性及良性腫瘤；非白血病及淋巴惡性腫瘤；神經元、神經膠質、星形膠質細胞、下丘腦及其他腺、巨噬細胞、上皮細胞、基質及囊胚腔病症；及炎症、免疫病症及其他血管生成相關病症。病症進一步包括癌性病狀，諸如B細胞增生性病症及/或B細胞腫瘤，例如淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、侵襲性NHL、復發性侵襲性NHL、

復發性惰性NHL、難治性NHL、難治性惰性NHL、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、小淋巴細胞性淋巴瘤、白血病、毛細胞白血病(HCL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)及套細胞淋巴瘤。

術語"細胞增生性病症"及"增生性病症"係指與某種程度之異常細胞增生相關之病症。在一實施例中，該細胞增生性病症為癌症。

如本文所使用，"腫瘤"係指所有贅生性細胞生長及增生(無論惡性抑或良性)以及所有癌前細胞與組織及癌性細胞與組織。

本文中之"自體免疫疾病"為由個體自身組織或器官產生及針對個體自身組織或器官之疾病或病症，或其共分離(co-segregate)或表現症狀或由此產生之病狀。在許多此等自體免疫及發炎性病症中，可能存在多種臨床及實驗室標記，包括(但不限於)高γ球蛋白血症、高自體抗體含量、組織中之抗原抗體複合物沈積、來自皮質類固醇或免疫抑制劑治療之益處及受感染組織中之淋巴樣細胞聚集體。在不受限於關於B細胞介導性自體免疫疾病之任一理論的情況下，咸信B細胞經由許多機械途徑展現對人類自體免疫疾病之病原性影響，該等途徑包括自體抗體產生、免疫複合物形成、樹突狀及T細胞活化、細胞因子合成、直接趨化因子釋放及提供異位新淋巴生成之病灶。此等途徑之每一者可不同程度地參與自體免疫疾病之病變。

"自體免疫疾病"可為器官特異性疾病(亦即，免疫反應特異性地針對器官系統，諸如內分泌系統、造血系統、皮膚、心肺系統、胃腸及肝系統、腎系統、甲狀腺、耳朵、神經肌肉系統、中樞神經系統等)或可影響多個器官系統之全身性疾病(例如，全身性紅斑狼瘡(SLE)、類風濕性關節炎、多肌炎等)。較佳之該等疾病包括自體免疫風濕性病症(諸如，類風濕性關節炎、休格連氏症候群(Sjögren's syndrome)、硬皮病、狼瘡(諸如SLE及狼瘡腎炎)、多肌炎/皮肌炎、冷球蛋白血症、抗磷脂抗體症候群及牛皮癬性關節炎)、自體免疫胃腸

病及肝病(諸如，發炎性腸病(例如，潰瘍性結腸炎及克羅恩氏病(Crohn's disease))、自體免疫胃炎及惡性貧血、自體免疫肝炎、原發性膽汁性肝硬化症、原發性硬化性膽管炎及乳糜瀉)、血管炎(諸如ANCA陰性血管炎及ANCA相關血管炎，包括徹奇-斯全司血管炎(Churg-Strauss vasculitis)、韋格納氏肉牙腫病(Wegener's granulomatosis)及顯微鏡下多血管炎(microscopic polyangiitis))、自體免疫神經病症(諸如多發性硬化症、眼陣攣肌陣攣症候群、重症肌無力、視神經脊髓炎、帕金森氏病(Parkinson's disease)、阿茲海默氏病(Alzheimer's disease)及自體免疫多發性神經病)、腎病(諸如絲球體腎炎、古德帕斯徹氏症候群(Goodpasture's syndrome)及伯格氏病(Berger's disease))、自體免疫皮膚病(諸如，牛皮癬、風疹、蕁麻疹、尋常天疱瘡、大皰性類天疱瘡及皮膚性紅斑狼瘡)、血液病(諸如，血小板減少性紫癜、栓塞性血小板減少性紫癜、輸血後紫癜及自體免疫性溶血性貧血)、動脈粥樣硬化、葡萄膜炎、自體免疫聽力疾病(諸如，內耳病及聽力喪失)、貝西氏病(Behcet's disease)、雷諾氏症候群(Raynaud's syndrome)、器官移植及自體免疫內分泌病症(諸如，糖尿病相關自體免疫疾病，諸如胰島素依賴性糖尿病(IDDM)、艾迪生氏病(Addison's disease)及自體免疫甲狀腺病(例如，格雷氏病(Graves'disease)及甲狀腺炎))。更佳之該等疾病包括(例如)類風濕性關節炎、潰瘍性結腸炎、ANCA相關血管炎、狼瘡、多發性硬化、休格連氏症候群、格雷氏病、IDDM、惡性貧血、甲狀腺炎及絲球體腎炎。

如本文所定義，在一些情況下涵蓋彼等上文所列之疾病之其他自體免疫疾病的特定實例包括(但不限於)關節炎(急性及慢性類風濕性關節炎(包括幼年發病型類風濕性關節炎及諸如類風濕性滑膜炎之階段)、痛風或痛風性關節炎、急性免疫性關節炎、慢性發炎性關節

炎、退化性關節炎、II型膠原蛋白誘導性關節炎、傳染性關節炎、萊姆關節炎(Lyme arthritis)、增生性關節炎、牛皮癬性關節炎、史提爾氏病(Still's disease)、脊椎關節炎、骨關節炎、慢性漸進性關節炎、關節炎畸形、慢性原發性多發性關節炎、反應性關節炎、絕經期關節炎、雌激素缺乏關節炎(estrogen-depletion arthritis)及強直性脊椎炎/類風濕性脊椎炎)；自體免疫淋巴組織增生性疾病、發炎性過度增生性皮膚病；牛皮癬，諸如斑塊狀牛皮癬、點狀牛皮癬、膿皰性牛皮癬及指甲牛皮癬；特異反應，包括異位性疾病，諸如枯草熱及喬布氏症候群(Job's syndrome)；皮炎，包括接觸性皮炎、慢性接觸性皮炎、剝脫性皮炎、過敏性皮炎、過敏性接觸性皮炎、蕁麻疹、疱疹樣皮炎、錢幣狀皮炎、脂溢性皮炎、非特異性皮炎、原發性刺激性接觸性皮炎及異位性皮炎；x性聯高IgM症候群(x-linked hyper IgM syndrome)；過敏性眼內發炎性疾病；蕁麻疹，諸如慢性過敏性蕁麻疹及慢性特發性蕁麻疹，包括慢性自體免疫性蕁麻疹；肌炎；多肌炎/皮肌炎；幼年型皮肌炎；中毒性表皮壞死溶解；硬皮病(包括全身性硬皮病)；硬化症，諸如全身性硬化症；多發性硬化症(MS)，諸如視神經脊髓炎型MS(spino-optical MS)、原發性進行性MS(PPMS)及復發緩解型MS(RRMS)；進行性全身性硬化症；動脈粥樣硬化；動脈硬化；播散性硬化症；共濟失調性硬化症；視神經脊髓炎(NMO)；發炎性腸病(IBD)(例如，克羅恩氏病、自體免疫介導性腸胃疾病、腸胃炎症、結腸炎(諸如潰瘍性結腸炎、潰瘍性結腸炎、顯微鏡下結腸炎、膠原性結腸炎、息肉狀結腸炎、壞死性小腸結腸炎及透壁性結腸炎)及自體免疫發炎性腸病)；腸炎症；壞疽性膿皮病；結節性紅斑；原發性硬化性膽管炎；呼吸窘迫症候群，包括成人或急性呼吸窘迫症候群(ARDS)；腦膜炎；葡萄膜之全部或部分的炎症；虹膜炎；脈絡膜炎；自體免疫血液病；移植物抗宿主疾病；血管性水腫，諸如遺傳性

血管性水腫；如腦膜炎中之腦神經損傷；妊娠疱疹；妊娠性類天疱瘡；陰囊搔癢症；自體免疫卵巢早衰；由自體免疫病狀引起之突發性耳聾；IgE介導性疾病，諸如過敏症及過敏性及異位性鼻炎；腦炎，諸如拉斯馬森腦炎(Rasmussen's encephalitis)及邊緣葉腦炎及/或腦幹腦炎；葡萄膜炎，諸如前葡萄膜炎、急性前葡萄膜炎、肉芽腫性葡萄膜炎、非肉芽腫性葡萄膜炎、晶狀體過敏性葡萄膜炎、後葡萄膜炎或自體免疫葡萄膜炎；伴有及不伴有腎病症候群之絲球體腎炎(GN)，諸如慢性或急性絲球體腎炎，諸如原發性GN、免疫介導性GN、膜性GN(膜性腎病)、特發性膜性GN或特發性膜性腎病、膜性增生性GN(MPGN)(包括I型及II型)及快速進行性GN(RPGN)；增生腎炎；自體免疫多腺性內分泌衰竭；龜頭炎，包括漿細胞性侷限性龜頭炎、龜頭包皮炎；離心性環形紅斑、持久性色素異常性紅斑、多形性紅斑；環狀肉芽腫；光澤苔癬、硬化萎縮性苔蘚、慢性單純性苔癬、小棘苔蘚、扁平苔癬；板層狀魚鱗病；表皮松解性過度角化症、惡變前角化症；壞疽性膿皮病；過敏性病狀及反應；食物過敏；藥物過敏；昆蟲過敏；罕見過敏性病症，諸如肥大細胞增多症；過敏反應；濕疹，包括過敏性或異位性濕疹、皮膚缺乏性濕疹、出汗障礙性濕疹及水泡性掌蹠濕疹(vesicular palmoplantar eczema)；哮喘，諸如支氣管哮喘、支氣管哮喘及自體免疫哮喘；涉及T細胞浸潤之病狀及慢性發炎性反應；針對外來抗原之免疫反應，諸如懷孕期間之胎兒A-B-O血型；慢性肺部發炎性疾病；自體免疫心肌炎；白血球黏附缺陷病；狼瘡，包括狼瘡腎炎、狼瘡性腦炎、小兒狼瘡、非腎狼瘡、腎外狼瘡、盤狀狼瘡及盤狀紅斑狼瘡、禿髮性狼瘡、SLE(諸如皮膚性SLE或亞急性皮膚性SLE)、新生兒狼瘡症候群(NLE)及播散性紅斑狼瘡；幼年發病型(I型)糖尿病，包括小兒IDDM；成年發病型糖尿病(II型糖尿病)；自體免疫糖尿病；特發性尿崩症；糖尿病性視網膜病；糖尿病性腎病；糖

尿病性結腸炎；糖尿病性大動脈病症；與由細胞因子及T淋巴細胞介導之急性及遲發超敏反應相關之免疫反應；肺結核；類肉瘤病；肉芽腫病，包括淋巴瘤樣肉芽腫病；顆粒性球缺乏症；血管炎(包括大血管血管炎，諸如風濕性多肌痛及巨細胞(高安氏(Takayasu's))動脈炎；中等血管血管炎，諸如川崎氏病(Kawasaki's disease)及結節性多動脈炎/結節性動脈周圍炎；免疫性血管炎、CNS血管炎、皮膚性血管炎、超敏性血管炎、壞死性血管炎(諸如類纖維蛋白壞死性血管炎及全身性壞死性血管炎)、ANCA陰性血管炎及ANCA相關血管炎，諸如徹奇-斯全司症候群(CSS)、韋格納氏肉芽腫病及顯微鏡下多血管炎；顳動脈炎；再生障礙性貧血；自體免疫再生障礙性貧血；庫姆陽性貧血(Coombs positive anemia)；先天性純紅血球再生障礙性貧血(Diamond Blackfan anemia)；溶血性貧血或免疫性溶血性貧血，包括自體免疫性溶血性貧血(AIHA)；惡性貧血(pernicious anemia/anemia perniciosa)；艾迪生氏病；純紅血球貧血或發育不全(PRCA)；因子VIII缺乏症；A型血友病；自體免疫嗜中性球減少症；血球減少症，諸如全血球減少症、白血球減少症、涉及白血球血球滲出之疾病；CNS發炎性病症；阿茲海默氏病；帕金森氏病；多器官損傷症候群，諸如繼發於敗血症之彼等者；外傷或出血；抗原抗體複合物介導性疾病；抗腎小球基底膜病；抗磷脂抗體症候群；單神經炎(motoneuritis)；過敏性神經炎；貝西氏病/症候群(Behçet's disease/syndrome)；卡索曼氏症候群(Castleman's syndrome)；古德帕斯徹氏症候群；雷諾氏症候群；休格連氏症候群；史蒂芬-瓊森症候群(Stevens-Johnson syndrome)；類天疱瘡或天疱瘡，諸如大皰性類天疱瘡、瘢痕性(黏膜性)類天疱瘡、皮膚類天疱瘡、尋常天疱瘡、副腫瘤性天疱瘡、落葉狀天疱瘡、天疱瘡性黏膜性類天疱瘡(pemphigus mucus-membrane pemphigoid)及紅斑性天疱瘡；後天性大皰性表皮松

解；眼睛炎症，較佳為過敏性眼睛炎症，諸如過敏性結膜炎；線性IgA大皰病；自體免疫誘導性結膜炎症；自體免疫性多內分泌病；萊特爾氏病或症候群(Reiter's disease or syndrome)；由自體免疫病狀引起之熱損傷；子癇前期；免疫複合物病症，諸如免疫複合物性腎炎；抗體介導性腎炎；神經發炎性病症；多發性神經病；慢性神經病，諸如IgM多發性神經病或IgM介導性神經病；血小板減少症(如由例如心肌梗塞患者逐步顯現)，包括栓塞性血小板減少性紫癜(TTP)、輸血後紫癜(PTP)、肝素誘導性血小板減少症及自體免疫或免疫介導性血小板減少症，包括(例如)特發性血小板減少性紫癜(ITP)，包括慢性或急性ITP；鞏膜炎，諸如特發性角膜鞏膜炎；表層鞏膜炎；睾丸及卵巢之自體免疫疾病，包括自體免疫睾丸炎及卵巢炎；原發性甲狀腺功能低下；副甲狀腺低能症；自體免疫內分泌疾病，包括甲狀腺炎，諸如自體免疫甲狀腺炎、橋本氏病(Hashimoto's disease)、慢性甲狀腺炎(橋本氏甲狀腺炎(Hashimoto's thyroiditis))或亞急性甲狀腺炎；自體免疫甲狀腺病；特發性甲狀腺功能低下；格雷氏病；格雷氏眼病(Grave's eye disease)(眼病或甲狀腺相關眼病)；多腺性症候群，諸如自體免疫多腺性症候群，例如I型(或多腺性內分泌病症候群)；副腫瘤症候群，包括神經性副腫瘤症候群，諸如蘭伯特-伊頓肌無力症候群(Lambert-Eaton myasthenic syndrome)或伊頓-蘭伯特症候群(Eaton-Lambert syndrome)；僵人症候群(stiff-man/stiff-person syndrome)；腦脊髓炎，諸如過敏性腦脊髓炎及實驗性過敏性腦脊髓炎(EAE)；重症肌無力，諸如胸腺瘤相關重症肌無力；小腦變性；神經性肌強直；眼陣攣或眼陣攣肌陣攣症候群(OMS)；及感覺神經病；多灶性運動神經病；席漢氏症候群(Sheehan's syndrome)；自體免疫肝炎；慢性肝炎；狼瘡樣肝炎；巨細胞肝炎；慢性活動性肝炎或自體免疫慢性活動性肝炎；肺炎，諸如淋巴細胞間質性肺炎(LIP)；阻塞性細支氣管炎(非移

植)vs NSIP；古立安-白瑞症候群(Guillain-Barré syndrome)；伯格氏病(IgA腎病)；特發性IgA腎病；線性IgA皮膚病；急性發熱性嗜中性皮膚病；角膜下膿皰性皮膚病；暫時性棘層松解性皮膚病；硬化症，諸如原發性膽汁性肝硬化症及肺硬變；自體免疫腸病症候群；腹腔疾病；乳糜瀉(麩質腸病)；難治癒性口炎性腹瀉；特發性脂肪瀉(idiopathic sprue)；冷球蛋白血症，諸如混合型冷球蛋白血症；肌肉萎縮性側索硬化(ALS；盧伽雷氏病(Lou Gehrig's disease))；冠狀動脈病；自體免疫耳病，諸如自體免疫內耳病(AIED)；自體免疫聽力喪失；多軟骨炎，諸如難治癒或復發性多軟骨炎；肺泡蛋白質沈積症；角膜炎，諸如柯根氏症候群(Cogan's syndrome)/非梅毒性間質性角膜炎；貝爾氏麻痹(Bell's palsy)；史維特氏病/症候群(Sweet's disease/syndrome)；自體免疫紅斑痤瘡；帶狀疱疹相關疼痛；澱粉樣變性病；非癌性淋巴球增多症；原發性淋巴球增多症，包括單株B細胞淋巴球增多症(例如，良性單株γ球蛋白症及意義不明之單株γ球蛋白症，MGUS)；周邊神經病；副腫瘤症候群；通道病，諸如癲癇症、偏頭痛、心律不整、肌肉病、耳聾、失明、週期性麻痹及CNS之通道病；自閉症；發炎性肌病；局灶性或節段性或局灶性節段性腎小球硬化(FSGS)；內分泌性眼病；葡萄膜視網膜炎；脈絡膜視網膜炎；自體免疫肝病；肌肉纖維疼痛；多發性內分泌衰竭；施密特氏症候群(Schmidt's syndrome)；腎上腺炎；胃萎縮；早老性癡呆；脫髓鞘病，諸如自體免疫脫髓鞘病及慢性發炎性脫髓鞘多發性神經病；德雷斯勒氏症候群(Dressler's syndrome)；斑禿；普禿；CREST症候群(鈣質沉著症、雷諾氏現象(Raynaud's phenomenon)、食道功能異常、指端硬化及毛細血管擴張)；男女自體免疫不孕症，例如歸因於抗精子抗體；混合型結締組織病；卡格氏病(Chagas' disease)；風濕熱；習慣性流產；農民肺；多形性紅斑；心切開術後症候群；柯興氏症候群

(Cushing's syndrome)；飼鳥者肺(bird-fancier's lung)；過敏性肉芽腫性脈管炎；良性淋巴細胞性脈管炎；阿爾波特氏症候群(Alport's syndrome)；肺泡炎，諸如過敏性肺泡炎及纖維性肺泡炎；間質性肺病；輸血反應；麻瘋病；瘧疾；寄生蟲病，諸如利什曼病(leishmaniasis)、錐蟲病、血吸蟲病、蛔蟲病；麴菌症；薩姆特氏症候群(Sampter's syndrome)；卡普蘭氏症候群(Caplan's syndrome)；登革熱；心內膜炎；心內膜心肌纖維化；彌漫性間質性肺纖維化；間質性肺纖維化；纖維性縱隔炎；肺纖維化；特發性肺纖維化；囊腫狀纖維化；內眼炎；持久性隆起性紅斑；胎兒紅血球母細胞增多症；嗜伊紅血球筋膜炎；舒曼氏症候群(Shulman's syndrome)；費爾蒂氏症候群(Felty's syndrome)；絲蟲病；睫狀體炎，諸如慢性睫狀體炎、異時性睫狀體炎、虹膜睫狀體炎(急性或慢性)或富克氏睫狀體炎(Fuch's cyclitis)；亨-舍二氏紫癜(Henoch-Schonlein purpura)；人類免疫缺陷性病毒(HIV)感染；SCID；後天免疫缺陷症候群(AIDS)；埃可病毒感染(echovirus infection)；敗血症(全身性發炎性反應症候群(SIRS))；內毒素血症；胰腺炎；甲狀腺中毒症(thyroxicosis)；細小病毒感染；風疹病毒感染；疫苗接種後症候群；先天性風疹感染；埃-巴二氏病毒感染(Epstein-Barr virus infection)；流行性腮腺炎；伊氏症候群(Evan's syndrome)；自體免疫性腺衰竭；西登哈姆氏舞蹈病(Sydenham's chorea)；鏈球菌感染後腎炎；血栓閉塞性脈管炎；甲狀腺毒症；脊髓癆；脈絡膜炎；巨細胞多肌痛；慢性超敏性肺炎；結膜炎，諸如春季卡他炎(vernal catarrh)、乾燥性角膜結膜炎及流行性角膜結膜炎；特發性腎病症候群；微小病變性腎病；良性家族性及缺血再灌注損傷；移植器官再灌注；視網膜自體免疫性；關節炎症；支氣管炎；慢性阻塞性氣管疾病/肺病；矽肺病；口瘡；口瘡性口炎；動脈硬化病(腦血管功能不全)，諸如動脈硬化腦病及動脈硬化視網膜

病；不形成精子症；自體免疫溶血；伯克氏病(Boeck's disease)；冷球蛋白血症；杜普特氏攣縮(Dupuytren's contracture)；晶狀體過敏性眼內炎；過敏性腸炎；麻風結節性紅斑；特發性面神經麻痹；慢性疲勞症候群；風濕性發熱(febris rheumatica)；哈麗二氏病(Hamman-Rich's disease)；知覺神經聽力損失；陣發性血紅素尿；性腺機能減退；侷限性回腸炎；白血球減少症；傳染性單核白血球增多症；橫貫性脊髓炎；原發性特發性黏液水腫；腎病；交感性眼炎(ophthalmia symphatica/sympathetic ophthalmitis)；新生兒眼炎；視神經炎；肉芽腫性睾丸炎；胰腺炎；急性多神經根炎；壞疽性膿皮病；奎汶氏甲狀腺炎(Quervain's thyreoiditis)；後天性脾萎縮；非惡性胸腺瘤；淋巴樣濾泡性胸腺炎；白斑病；中毒性休克症候群；食物中毒；涉及T細胞浸潤之病狀；白血球黏附缺陷病；與由細胞因子及T淋巴細胞介導之急性及遲發超敏反應相關之免疫反應；涉及白血球血球滲出之疾病；多器官損傷症候群；抗原抗體複合物介導性疾病；抗腎小球基底膜病；自體免疫性多內分泌病；卵巢炎；原發性黏液水腫；自體免疫萎縮性胃炎；風濕病；混合型結締組織病；腎病症候群；胰島炎；多內分泌腺衰竭；自體免疫多腺性症候群，包括I型多腺性症候群；成年發病型特發性副甲狀腺低能症(AOIH)；心肌病，諸如擴張性心肌病；後天性大皰性表皮松解(EBA)；血色病；心肌炎；腎病症候群；原發性硬化性膽管炎；化膿性或非化膿性竇炎；急性或慢性竇炎；篩竇炎、額竇炎、上頜竇炎或蝶竇炎；過敏性竇炎；嗜伊紅血球相關病症，諸如嗜伊紅血球增多、肺部浸潤性嗜伊紅血球增多、嗜伊紅血球增多-肌痛症候群、呂弗勒氏症候群(Loffler's syndrome)、慢性嗜酸性肺炎、熱帶性肺嗜伊紅血球增多、支氣管肺炎性麴菌症、麴菌腫或肉芽腫(含有嗜伊紅血球)；過敏症；脊柱關節病；血清陰性脊柱關節炎；多內分泌腺自體免疫疾病；硬化性膽管炎；鞏膜、外鞏膜、慢性

皮膚黏膜念珠菌病；布魯頓氏症候群(Bruton's syndrome)；嬰兒暫時性低γ球蛋白血症；維-奧二氏症候群(Wiskott-Aldrich syndrome)；共濟失調毛細血管擴張症候群；血管擴張；與膠原病相關之自體免疫病症；風濕病，諸如慢性關節風濕病；淋巴腺炎；血壓反應減少；血管功能障礙；組織損傷；心血管局部缺血；痛覺過敏；腎缺血；大腦局部缺血；及伴有血管形成之疾病；過敏性超敏性病症；腎小球腎炎；再灌注損傷；缺血性再灌注病症；心肌或其他組織之再灌注損傷；淋巴瘤性氣管支氣管炎；發炎性皮膚病；伴有急性發炎性成分之皮膚病；多器官衰竭；大皰病；腎皮質壞死；急性化膿性腦膜炎或其他中樞神經系統發炎性病症；眼睛及眼眶發炎性病症；顆粒球輸注相關症候群；細胞因子誘導性毒性；發作性睡病；急性嚴重炎症；慢性難治性炎症；腎盂炎；動脈內增生；消化性潰瘍；心瓣炎；及子宮內膜異位。本文中預期藉由投與結合於B細胞表面標記(諸如CD79b)之抗體來治療該等疾病，且包括投與非共軛("裸")抗體或與如本文所揭示之細胞毒性劑共軛之抗體。本文中亦預期藉由包括本發明之抗-CD79b抗體或抗-CD79b抗體藥物共軛物與同時或連續投與之另一抗體或抗體藥物共軛物、另一細胞毒性劑、放射治療或其他治療之組合的組合療法來治療該等疾病。

"治療"或"減輕"係指治療性治療及預防性措施兩者，其中目的在於預防或減緩(減少)靶向病理病狀或病症。需要治療之彼等者包括已患有病症之彼等者以及傾向於患有病症之彼等者或病症有待預防之彼等者。若在根據本發明之方法接受治療量之抗-CD79b抗體後，患者顯示可觀察到及/或可量測的下列情況中之一或多者：癌細胞數目減少或癌細胞不存在；腫瘤尺寸減小；癌細胞浸潤至周邊器官中(包括癌症擴散至軟組織及骨中)得到抑制(亦即，在某種程度上得到減緩且較佳為得到阻止)；腫瘤轉移得到抑制(亦即，在某種程度上得到減緩

且較佳為得到阻止)；腫瘤生長在某種程度上得到抑制；及/或與特定癌症相關之症狀中之一或多者在某種程度上得到緩解；發病率及死亡率降低，以及生活品質問題得到改善，則個體或哺乳動物之表現CD79b多肽之癌症得以成功地"治療"。就抗-CD79b抗體可防止現有癌細胞生長及/或殺死現有癌細胞而言，其可具細胞抑制性及/或細胞毒性。患者亦可感覺到此等徵象或症狀之減少。

用於評估疾病之成功治療及改善之上述參數可容易地藉由醫師所熟知之常規程序來量測。對於癌症治療而言，可例如藉由評估疾病進展時間(TTP)及/或測定反應率(RR)來量測功效。癌轉移可藉由分期測試及藉由用於測定向骨之擴散之骨掃描及對鈣含量與其他酶之測試來確定。亦可進行CT掃描以檢查向區域中之骨盆及淋巴結的擴散。胸部X射線檢查及藉由已知方法量測肝酶含量被分別用於檢查向肺及肝之癌轉移。用於監測疾病之其他常規方法包括經直腸超音波檢查術(TRUS)及經直腸穿刺活檢術(TRNB)。

對於為較為侷限性的癌症之膀胱癌而言，測定疾病進展之方法包括藉由膀胱鏡檢查進行尿細胞學評估、監測尿液中血液之存在、藉由音波檢查或靜脈內腎盂照相來目測泌尿道、電腦斷層攝影術(CT)及磁共振成像(MRI)。遠處癌轉移之存在可藉由腹部之CT、胸部x射線或骨架之放射性核種成像來評估。

"長期"投藥係指與短期模式相反以連續模式投與藥劑，以便使初始治療效應(活性)維持延長之時間段。"間歇"投藥為不連續進行但不中斷、而實質上循環進行之治療。

"個體"為脊椎動物。在某些實施例中，該脊椎動物為哺乳動物。哺乳動物包括(但不限於)農畜(諸如牛)、運動動物、寵物(諸如貓、狗及馬)、靈長類動物、小鼠及大鼠。在某些實施例中，哺乳動物為人類。

出於治療癌症、減輕癌症之症狀之目的，"哺乳動物"係指歸類為哺乳動物之任何動物，包括人類、家畜及農畜，以及動物園、運動或玩賞動物，諸如狗、貓、牛、馬、綿羊、豬、山羊、兔子等。較佳地，該哺乳動物為人類。

與一或多種其他治療劑"組合"投藥包括同時(同步)投藥及以任何順序連續投藥。

如本文所使用，"載劑"包括醫藥學上可接受之載劑、賦形劑或穩定劑，其在所用之劑量及濃度下對所暴露於之細胞或哺乳動物無毒。生理學上可接受之載劑常常為水性pH值緩衝溶液。生理學上可接受之載劑之實例包括緩衝劑，諸如磷酸鹽、檸檬酸鹽及其他有機酸；抗氧化劑，包括抗壞血酸；低分子量(小於約10個殘基)多肽；蛋白質，諸如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，諸如聚乙烯吡咯啶酮；胺基酸，諸如甘胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺酸、精胺酸或離胺酸；單醣、雙醣及其他碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合劑，諸如EDTA；糖醇，諸如甘露糖醇或山梨糖醇；鹽形成抗衡離子，諸如鈉；及/或非離子性界面活性劑，諸如TWEEN®、聚乙二醇(PEG)及PLURONICS®。

"固相"或"固體支撐物"意謂本發明之抗體可黏附或附著之非水性基質。本文中所涵蓋之固相之實例包括部分或完全由玻璃(例如受控微孔玻璃)、多醣(例如瓊脂糖)、聚丙烯醯胺、聚苯乙烯、聚乙烯醇及聚矽氧形成之彼等者。在某些實施例中，視情況而定，該固相可包含檢定板之孔；在其他情況下，其為純化管柱(例如親和層析管柱)。此術語亦包括離散粒子之不連續固相，諸如美國專利第4,275,149號中所述之彼等者。

"脂質體"為由適用於將藥物(諸如CD79b抗體)傳遞至哺乳動物之各種類型之脂質、磷脂及/或界面活性劑構成的小泡。脂質體之組分

通常排列成雙層構造，類似於生物膜之脂質排列。

"小"分子或"小"有機分子在本文中被定義為具有低於約500道爾頓之分子量。

"個體(individual/subject)"或"患者"為脊椎動物。在某些實施例中，該脊椎動物為哺乳動物。哺乳動物包括(但不限於)農畜(諸如牛)、運動動物、寵物(諸如貓、狗及馬)、靈長類動物、小鼠及大鼠。在某些實施例中，哺乳動物為人類。

術語"醫藥調配物"係指一種呈可允許活性成份之生物活性有效之形式且不含有對將投與調配物之個體具不可接受之毒性之其他組份的製劑。該調配物可為無菌的。

"無菌"調配物為無菌的且不含所有活微生物及其孢子。

如本文所揭示之抗體之"有效量"為足以實現具體指定目的之量。"有效量"可根據指定目的憑經驗及以常規方式來確定。

術語"治療有效量"係指抗體或其他藥物可有效"治療"個體或哺乳動物之疾病或病症之量。在癌症之情況下，治療有效量之藥物能減少癌細胞之數目；減小腫瘤尺寸；抑制(亦即，在某種程度上減緩且較佳為阻止)癌細胞浸潤至周邊器官中；抑制(亦即，在某種程度上減緩且較佳為阻止)腫瘤轉移；在某種程度上抑制腫瘤生長；及/或在某種程度上減輕與癌症相關之症狀中的一或多個症狀。參見本文中對於"治療"之定義。就藥物可防止現有癌細胞生長及/或殺死現有癌細胞而言，其可具細胞抑制性及/或細胞毒性。"預防有效量"係指在一定劑量及時間段下可有效達成所需預防性效果所必需之量。通常但並非必定，因為預防劑量係在疾病早期階段之前或早期階段時用於個體，所以預防有效量將小於治療有效量。

抗-CD79b抗體之"生長抑制量"為能夠在活體外或活體內抑制細胞(尤其腫瘤，例如癌細胞)生長之量。出於抑制贅生性細胞生長之目

的，抗-CD79b抗體之"生長抑制量"可憑經驗及以常規方式來確定。

抗-CD79b抗體之"細胞毒性量"為能夠在活體外或活體內引起細胞(尤其腫瘤，例如癌細胞)破壞之量。出於抑制贅生性細胞生長之目的，抗-CD79b抗體之"細胞毒性量"可憑經驗及以常規方式來確定。

"表現CD79b之細胞"為於細胞表面上或以分泌形式表現內源性或經轉染CD79b多肽之細胞。"表現CD79b之癌症"為包含於細胞表面上存在有CD79b多肽或產生及分泌CD79b多肽之細胞的癌症。"表現CD79b之癌症"視情況於其細胞表面上產生足夠量之CD79b多肽，以使得抗-CD79b抗體可與之結合且具有對於該癌症之治療效應。在另一實施例中，"表現CD79b之癌症"視情況產生及分泌足夠量之CD79b多肽，以使得抗-CD79b抗體拮抗劑可與之結合且具有對於該癌症之治療效應。關於後者，該拮抗劑可為能減少、抑制或防止腫瘤細胞產生及分泌分泌性CD79b多肽之反義寡核苷酸。"過表現"CD79b多肽之癌症為與相同組織類型之非癌性細胞相比於細胞表面上具有顯著較高含量之CD79b多肽或產生及分泌顯著較高含量之CD79b多肽的癌症。該過表現可由基因擴增或由轉錄或轉譯增加而引起。CD79b多肽過表現可在偵測或預後檢定中藉由評估存在於細胞表面上或由細胞分泌之CD79b蛋白質增加之含量來確定(例如，經由免疫組織化學檢定，使用針對經分離之CD79b多肽製備之抗-CD79b抗體，其中該多肽可使用重組DNA技術自編碼CD79b多肽之經分離之核酸製備；FACS分析等)。或者或另外，吾人可量測細胞中編碼CD79b多肽之核酸或mRNA之含量，例如經由對應於編碼CD79b之核酸或其補體使用基於核酸之探針進行螢光原位雜交(FISH；參見1998年10月公開之WO 98/45479)、南方墨點法、北方墨點法或聚合酶鏈反應(PCR)技術，諸如實時定量PCR(RT-PCR)。吾人亦可藉由量測生物流體(諸如血清)中之脫落抗原來研究CD79b多肽過表現，例如使用基於抗體之檢定(亦

參見例如1990年6月12日頒布之美國專利第4,933,294號；1991年4月18日公開之WO 91/05264；1995年3月28日頒布之美國專利5,401,638；及Sias等人，**J. Immunol. Methods** 132:73-80 (1990))。除了上述檢定，熟練從業者可使用各種活體內檢定。舉例而言，吾人可使患者體內之細胞暴露於視情況經可偵測標記(例如放射性同位素)標記之抗體，且可例如藉由針對放射性進行外部掃描或藉由分析獲自先前暴露於抗體之患者之活組織檢查來評估抗體與患者體內細胞之結合。

如本文所使用，術語"免疫黏附素"表示組合異源蛋白質("黏附素")之結合特異性與免疫球蛋白恆定域之效應功能的類抗體分子。在結構上，免疫黏附素包含不同於抗體之抗原識別及結合位點(亦即，為"異源")之具有所需結合特異性的胺基酸序列與免疫球蛋白恆定域序列之融合。免疫黏附素分子之黏附素部分通常為至少包含受體或配位體之結合位點的毗連胺基酸序列。免疫黏附素中之免疫球蛋白恆定域序列可自任何免疫球蛋白獲得，諸如IgG-1、IgG-2、IgG-3或IgG-4亞型、IgA(包括IgA-1及IgA-2)、IgE、IgD或IgM。

詞語"標記"在本文中使用時係指直接或間接與抗體共軛以便產生"經標記"抗體之可偵測化合物或組合物。標記本身可為可偵測的(例如放射性同位素標記或螢光標記)，或在酶促標記之情況下可催化可偵測之受質化合物或組合物之化學變化。

如本文所使用，術語"細胞毒性劑"係指能抑制或阻止細胞之功能及/或導致細胞破壞之物質。該術語意欲包括放射性同位素(例如，At^{211}、I^{131}、I^{125}、Y^{90}、Re^{186}、Re^{188}、Sm^{153}、Bi^{212}、P^{32}及Lu之放射性同位素)；化學治療劑，例如甲胺喋呤(methotrexate)、阿黴素(adriamicin)、長春花生物鹼(vinca alkaloid)(長春新鹼(vincristine)、長春鹼(vinblastine)、依託泊苷(etoposide))、羥道諾紅黴素、美法侖(melphalan)、絲裂黴素C(mitomycin C)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、

柔紅黴素(daunorubicin)或其他嵌入劑；酶及其片段，諸如溶核酶；抗生素；及毒素，諸如細菌、真菌、植物或動物來源之小分子毒素或酶活性毒素，包括其片段及/或變異體；及以下所揭示之各種抗腫瘤劑或抗癌劑。其他細胞毒性劑描述於下文中。殺腫瘤劑導致腫瘤細胞之破壞。

"毒素"為能夠對細胞之生長或增生具有有害效應之任何物質。

"化學治療劑"為不管何種作用機制皆適用於治療癌症之化學化合物。化學治療劑之種類包括(但不限於)：烷基化劑、抗代謝物、紡錘體抑制劑、植物鹼、細胞毒性/抗腫瘤抗生素、拓撲異構酶抑制劑、抗體、光敏劑及激酶抑制劑。化學治療劑包括用於"靶向療法"及習知化學療法之化合物。化學治療劑之實例包括：埃羅替尼(erlotinib)(TARCEVA®，Genentech/OSI Pharm.)、多烯紫杉醇(docetaxel)(TAXOTERE®，Sanofi-Aventis)、5-FU(氟尿嘧啶、5-氟尿嘧啶，CAS號51-21-8)、吉西他濱(gemcitabine)(GEMZAR®，Lilly)、PD-0325901(CAS號391210-10-9，Pfizer)、順鉑(cisplatin)(順-二胺-二氯鉑(II)，CAS號15663-27-1)、卡鉑(carboplatin)(CAS號41575-94-4)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)(TAXOL®，Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.)、曲妥珠單抗(HERCEPTIN®，Genentech)、替莫唑胺(temozolomide)(4-甲基-5-側氧基-2,3,4,6,8-五氮雜雙環[4.3.0]壬-2,7,9-三烯-9-甲醯胺，CAS號85622-93-1，TEMODAR®，TEMODAL®，Schering Plough)、他莫昔芬(tamoxifen)((*Z*)-2-[4-(1,2-二苯基丁-1-烯基)苯氧基]-*N*,*N*-二甲基-乙胺，NOLVADEX®，ISTUBAL®，VALODEX®)及羥道諾紅黴素(ADRIAMYCIN®)、Akti-1/2、HPPD及雷帕黴素(rapamycin)。

化學治療劑之更多實例包括：奧賽力鉑(oxaliplatin)(ELOXATIN®，Sanofi)、硼替佐米(bortezomib)(VELCADE®，

Millennium Pharm.)、舒尼替尼(sutent) (SUNITINIB®，SU11248，Pfizer)、來曲唑(letrozole) (FEMARA®，Novartis)、伊馬替尼甲磺酸鹽(imatinib mesylate)(GLEEVEC®，Novartis)、XL-518(Mek抑制劑，Exelixis，WO 2007/044515)、ARRY-886(Mek抑制劑，AZD6244，Array BioPharma, Astra Zeneca)、SF-1126(PI3K抑制劑，Semafore Pharmaceuticals)、BEZ-235(PI3K抑制劑，Novartis)、XL-147(PI3K抑制劑，Exelixis)、PTK787/ZK 222584(Novartis)、氟維司群(fulvestrant)(FASLODEX®，AstraZeneca)、甲醯四氫葉酸(leucovorin)(亞葉酸)、雷帕黴素(西羅莫司(sirolimus)，RAPAMUNE®，Wyeth)、拉帕替尼(lapatinib)(TYKERB®，GSK572016，Glaxo Smith Kline)、洛那法尼(lonafarnib)(SARASAR™，SCH 66336，Schering Plough)、索拉非尼(sorafenib)(NEXAVAR®，BAY43-9006，Bayer Labs)、吉非替尼(gefitinib)(IRESSA®，AstraZeneca)、伊立替康(irinotecan)(CAMPTOSAR®，CPT-11，Pfizer)、替吡法尼(tipifarnib)(ZARNESTRA™，Johnson & Johnson)、ABRAXANE™(不含克列莫佛(Cremophor))(亦即，太平洋紫杉醇之白蛋白工程化奈米粒子調配物)(American Pharmaceutical Partners, Schaumberg, Il)、範得它尼(vandetanib)(rINN，ZD6474，ZACTIMA®，AstraZeneca)、苯丁酸氮芥、AG1478、AG1571(SU 5271；Sugen)、坦西莫司(temsirolimus)(TORISEL®，Wyeth)、帕佐帕尼(pazopanib)(GlaxoSmithKline)、坎佛醯胺(canfosfamide) (TELCYTA®，Telik)、塞替派(thiotepa)及環磷醯胺(cyclosphosphamide)(CYTOXAN®，NEOSAR®)；烷基磺酸鹽，諸如白消安(busulfan)、英丙舒凡(improsulfan)及哌泊舒凡(piposulfan)；氮丙啶類，諸如苯佐多巴(benzodopa)、卡波醌(carboquone)、米特多巴(meturedopa)及尤利多巴(uredopa)；乙烯亞胺類及甲基三聚氰胺

類，包括六甲密胺(altretamine)、三伸乙基三聚氰胺、三伸乙基磷醯胺、三伸乙基硫基磷醯胺及三羥甲基三聚氰胺；乙醯精寧(acetogenin)(尤其布拉他辛(bullatacin)及布拉他辛酮(bullatacinone))；喜樹鹼(camptothecin)(包括合成類似物拓朴替康(topotecan))；苔蘚蟲素(bryostatin)；卡利他汀(callystatin)；CC-1065(包括其阿多來新(adozelesin)、卡折來新(carzelesin)及比折來新(bizelesin)合成類似物)；自念珠藻環肽(cryptophycin)(尤其自念珠藻環肽1及自念珠藻環肽8)；海兔毒素；多卡米辛(duocarmycin)(包括合成類似物KW-2189及CB1-TM1)；艾榴素(eleutherobin)；水鬼蕉鹼(pancratistatin)；沙考的汀(sarcodictyin)；海綿他汀(spongistatin)；氮芥類(nitrogen mustards)，諸如苯丁酸氮芥、萘氮芥(chlornaphazine)、氯磷醯胺、雌莫司汀(estramustine)、異環磷醯胺(ifosfamide)、氮芥(mechlorethamine)、氮芥氧化物鹽酸鹽、美法侖(melphalan)、新氮芥(novembichin)、膽甾醇對苯乙酸氮芥(phenesterine)、潑尼莫司汀(prednimustine)、曲洛磷胺(trofosfamide)、尿嘧啶氮芥(uracil mustard)；亞硝基脲(nitrosurea)，諸如卡莫司汀(carmustine)、氯脲黴素(chlorozotocin)、福莫司汀(fotemustine)、洛莫司汀(lomustine)、尼莫司汀(nimustine)及雷莫司汀(ranimnustine)；抗生素，諸如烯二炔(enediyne)抗生素(例如，卡奇黴素(calicheamicin)、卡奇黴素γ1I、卡奇黴素ωI1(Angew Chem. Intl. Ed. Engl. (1994) 33:183-186)；達內黴素(dynemicin)、達內黴素A；雙膦酸鹽，諸如氯屈膦酸鹽(clodronate)；埃斯培拉黴素(esperamicin)；以及新制癌菌素(neocarzinostatin)發色團及相關色蛋白烯二炔抗生素發色團)、阿克拉黴素(aclacinomycin)、放線菌素(actinomycin)、奧斯拉米辛(authramycin)、偶氮絲胺酸(azaserine)、博萊黴素(bleomycin)、放線菌素C(cactinomycin)、卡拉比辛(carabicin)、洋紅黴素(carminomycin)、嗜癌黴素

(carzinophilin)、色黴素(chromomycin)、放線菌素D(dactinomycin)、柔紅黴素、地托比星(detorubicin)、6-重氮基-5-側氧基-L-正白胺酸、嗎啉基-羥道諾紅黴素、氰基嗎啉基-羥道諾紅黴素、2-吡咯啉基-羥道諾紅黴素及脫氧羥道諾紅黴素、表柔比星(epirubicin)、依索比星(esorubicin)、黃膽素(idarubicin)、麻西羅黴素(marcellomycin)、絲裂黴素(mitomycin)(諸如絲裂黴素C)、黴酚酸(mycophenolic acid)、諾拉黴素(nogalamycin)、橄欖黴素(olivomycin)、培洛黴素(peplomycin)、泊非黴素(porfiromycin)、嘌呤黴素(puromycin)、三鐵阿黴素(quelamycin)、羅多比星(rodorubicin)、鏈黑黴素(streptonigrin)、鏈佐星(streptozocin)、殺結核菌素(tubercidin)、烏苯美司(ubenimex)、淨司他丁(zinostatin)、佐柔比星(zorubicin)；抗代謝物，諸如甲胺喋呤及5-氟尿嘧啶(5-FU)；葉酸類似物，諸如迪諾特寧(denopterin)、甲胺喋呤、蝶羅呤(pteropterin)、三甲曲沙(trimetrexate)；嘌呤類似物，諸如氟達拉濱(fludarabine)、6-巰基嘌呤、噻咪嘌呤(thiamiprine)、硫鳥嘌呤(thioguanine)；嘧啶類似物，諸如安西他濱(ancitabine)、阿紮胞苷(azacitidine)、6-氮尿苷、卡莫氟(carmofur)、阿糖胞苷(cytarabine)、雙脫氧尿苷(dideoxyuridine)、去氧氟尿苷(doxifluridine)、依諾他濱(enocitabine)、氟尿苷(floxuridine)；雄激素，諸如卡普睾酮(calusterone)、屈他雄酮丙酸酯(dromostanolone propionate)、環硫雄醇(epitiostanol)、美雄烷(mepitiostane)、睾內酯(testolactone)；抗腎上腺類，諸如胺魯米特(aminoglutethimide)、米托坦(mitotane)、曲洛司坦(trilostane)；葉酸補充劑，諸如夫羅林酸(frolinic acid)；醋葡醛內酯(aceglatone)；醛磷醯胺糖苷(aldophosphamide glycoside)；胺基乙醯丙酸；恩尿嘧啶(eniluracil)；安吖啶(amsacrine)；貝司他布(bestrabucil)；比生群(bisantrene)；艾達曲卡(edatraxate)；得弗伐胺(defofamine)；秋水仙胺(demecolcine)；地

吖醌(diaziquone)；艾弗尼辛(elfornithine)；依利醋銨(elliptinium acetate)；埃坡黴素(epothilone)；依託格魯(etoglucid)；硝酸鎵；羥基脲；蘑菇多糖(lentinan)；羅尼代寧(lonidainine)；美登素類(maytansinoids)，諸如美登素(maytansine)及美登木素(ansamitocin)；米托胍腙(mitoguazone)；米托蒽醌(mitoxantrone)；莫比旦莫耳(mopidanmol)；硝爾靈(nitraerine)；噴司他丁(pentostatin)；蛋胺氮芥(phenamet)；吡柔比星(pirarubicin)；洛索蒽醌(losoxantrone)；足葉草酸(podophyllinic acid)；2-乙基醯肼；丙卡巴肼(procarbazine)；PSK®多醣複合物(JHS Natural Products, Eugene, OR)；雷佐生(razoxane)；根瘤菌素(rhizoxin)；西佐喃(sizofiran)；鍺螺胺(spirogermanium)；細交鏈孢菌酮酸(tenuazonic acid)；三亞胺醌(triaziquone)；2,2',2''-三氯三乙胺；單端孢黴烯族毒素(trichothecene)(尤其T-2毒素、韋拉庫林A(verracurin A)、桿孢菌素A(roridin A)及安奎定(anguidine))；烏拉坦(urethan)；長春地辛(vindesine)；達卡巴嗪(dacarbazine)；甘露莫司汀(mannomustine)；二溴甘露醇(mitobronitol)；二溴衛矛醇(mitolactol)；哌泊溴烷(pipobroman)；伽托辛(gacytosine)；阿拉伯糖苷(arabinoside)("Ara-C")；環磷醯胺；塞替派；6-硫鳥嘌呤；巯基嘌呤；甲胺喋呤；鉑類似物，諸如順鉑及卡鉑；長春鹼；依託泊苷(VP-16)；異環磷醯胺；米托蒽醌；長春新鹼；長春瑞濱(vinorelbine)(NAVELBINE®)；諾凡特龍(novantrone)；替尼泊苷(teniposide)；依達曲沙(edatrexate)；道諾黴素；胺基喋呤(aminopterin)；卡培他濱(capecitabine)(XELODA®，Roche)；伊班膦酸鹽(ibandronate)；CPT-11；拓撲異構酶抑制劑RFS 2000；二氟甲基鳥胺酸(DMFO)；類視色素，諸如視黃酸；及上述任一者之醫藥學上可接受之鹽、酸及衍生物。

"化學治療劑"之定義中亦包括：(i)用於調節或抑制激素對腫瘤之

作用的抗激素藥劑，諸如抗雌激素及選擇性雌激素受體調節劑(SERM)，包括(例如)他莫昔芬(tamoxifen)(包括NOLVADEX®，檸檬酸他莫昔芬)、雷諾昔酚(raloxifene)、屈洛昔芬(droloxifene)、4-羥基他莫昔芬、曲沃昔芬(trioxifene)、雷洛昔芬(keoxifene)、LY117018、奧那司酮(onapristone)及FARESTON®(檸檬酸托瑞米芬(toremifine citrate))；(ii)可抑制酶芳香酶之芳香酶抑制劑，其調節腎上腺中之雌激素產生，諸如4(5)-咪唑、胺魯米特、MEGASE®(醋酸甲地孕酮(megestrol acetate))、AROMASIN®(依西美坦(exemestane)；Pfizer)、弗米斯坦(formestanie)、法屈唑(fadrozole)、RIVISOR®(伏羅唑(vorozole))、FEMARA®(來曲唑(letrozole)；Novartis)及ARIMIDEX®(安美達錠(anastrozole)；AstraZeneca)；(iii)抗雄激素，諸如氟他胺(flutamide)、尼魯米特(nilutamide)、比卡魯胺(bicalutamide)、亮丙瑞林(leuprolide)及戈舍瑞林(goserelin)；以及曲沙他濱(troxacitabine)(1,3-二氧戊環核苷胞嘧啶類似物)；(iv)蛋白激酶抑制劑，諸如MEK抑制劑(WO 2007/044515)；(v)脂質激酶抑制劑；(vi)反義寡核苷酸，尤其能抑制異常細胞增生中所涉及之信號轉導途徑中之基因表現的彼等者，例如PKC-α、Raf及H-Ras，諸如奧利默森(oblimersen) (GENASENSE®，Genta Inc.)；(vii)核酶，諸如VEGF表現抑制劑(例如ANGIOZYME®)及HER2表現抑制劑；(viii)疫苗，諸如基因治療疫苗，例如ALLOVECTIN®、LEUVECTIN®及VAXID®；PROLEUKIN® rIL-2；拓撲異構酶1抑制劑，諸如LURTOTECAN®；ABARELIX® rmRH；(ix)抗血管生成劑，諸如貝伐單抗(bevacizumab)(AVASTIN®，Genentech)；及上述任一者之醫藥學上可接受之鹽、酸及衍生物。

"化學治療劑"之定義中亦包括治療性抗體，諸如阿來組單抗(alemtuzumab)(Campath)、貝伐單抗(AVASTIN®，Genentech)；西妥

昔單抗(cetuximab)(ERBITUX®，Imclone)；帕尼單抗(panitumumab)(VECTIBIX®，Amgen)、利妥昔單抗(rituximab)(RITUXAN®，Genentech/Biogen Idec)、帕妥珠單抗(pertuzumab) (OMNITARG™，2C4，Genentech)、曲妥珠單抗(HERCEPTIN®，Genentech)、托西莫單抗(tositumomab) (Bexxar，Corixia)及抗體藥物共軛物吉妥珠單抗奧唑米星(gemtuzumab ozogamicin)(MYLOTARG®，Wyeth)。

"生長抑制劑"在本文中使用時係指能在活體外或活體內抑制細胞、尤其表現CD79b之癌細胞生長的化合物或組合物。因此，該生長抑制劑可為能顯著降低S期中之表現CD79b之細胞的百分數之藥劑。生長抑制劑之實例包括能阻斷細胞週期進程(在除S期以外之階段)之藥劑，諸如誘導G1停滯及M期停滯之藥劑。典型M期阻斷劑包括長春鹼類(長春新鹼及長春鹼)、紫杉烷(taxanes)及拓撲異構酶II抑制劑，諸如羥道諾紅黴素、表柔比星、柔紅黴素、依託泊苷及博萊黴素。能使G1停滯之彼等藥劑亦擴溢為能使S期停滯，例如DNA烷基化劑，諸如他莫昔芬、潑尼松(prednisone)、達卡巴嗪(dacarbazine)、氮芥、順鉑、甲胺喋呤、5-氟尿嘧啶及ara-C。其他資訊可見於**The Molecular Basis of Cancer**, Mendelsohn及Israel編，第1章，標題為"Cell cycle regulation, oncogenes, and antineoplastic drugs"，Murakami等人(WB Saunders: Philadelphia, 1995)，尤其第13頁中。紫杉烷(太平洋紫杉醇及多烯紫杉醇)為皆源自紫杉樹之抗癌藥。源自歐洲紫杉之多烯紫杉醇(TAXOTERE®，Rhone-Poulenc Rorer)為太平洋紫杉醇(TAXOL®，Bristol-Myers Squibb)之半合成類似物。太平洋紫杉醇及多烯紫杉醇促進由微管蛋白二聚體組裝微管且藉由防止解聚合而使微管穩定，此導致細胞之有絲分裂受到抑制。

"羥道諾紅黴素"為蒽環黴素(anthracycline)抗生素。羥道諾紅黴素之完整化學名稱為(8S-順)-10-[(3-胺基-2,3,6-三脫氧基-α-L-來蘇-己

吡喃糖基)氧基]-7,8,9,10-四氫-6,8,11-三羥基-8-(羥基乙醯基)-1-甲氧基-5,12-幷四苯二酮。

術語"細胞因子"為由一細胞群體所釋放、作為細胞間介體作用於另一細胞之蛋白質的通用術語。該等細胞因子之實例為淋巴因子、單核因子及傳統多肽激素。該等細胞因子中包括生長激素，諸如人類生長激素、N-甲硫胺醯基人類生長激素及牛生長激素；甲狀旁腺激素；甲狀腺素；胰島素；前胰島素；鬆弛素；前鬆弛素；醣蛋白激素，諸如促濾泡激素(FSH)、促甲狀腺激素(TSH)及促黃體素(LH)；肝生長因子；纖維母細胞生長因子；泌乳素；胎盤生乳素；腫瘤壞死因子-α及腫瘤壞死因子-β；苗勒抑制物質(mullerian-inhibiting substance)；小鼠促性腺激素相關肽；抑制素；活化素；血管內皮生長因子；整合素；血小板生成素(TPO)；神經生長因子，諸如NGF-β；血小板生長因子；轉化生長因子(TGF)，諸如TGF-α及TGF-β；胰島素樣生長因子-I及胰島素樣生長因子-II；紅血球生成素(EPO)；骨誘導因子；干擾素，諸如干擾素-α、干擾素-β及干擾素-γ；群落刺激因子(CSF)，諸如巨噬細胞-CSF(M-CSF)；顆粒球巨噬細胞-CSF(GM-CSF)；及顆粒球-CSF(G-CSF)；介白素(IL)，諸如IL-1、IL-1a、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-11、IL-12；腫瘤壞死因子，諸如TNF-α或TNF-β；及其他多肽因子，包括LIF及kit配位體(KL)。如本文中所使用，術語細胞因子包括來自天然來源或來自重組細胞培養物之蛋白質及天然序列細胞因子之生物活性等效物。

術語"包裝插頁"係用於指通常包括在治療產品之商業包裝中之說明書，其含有關於適應症、用法、劑量、投藥、禁忌及/或關於使用該等治療產品之注意事項的資訊。

術語"細胞內代謝物"係指由細胞內對抗體-藥物共軛物(ADC)之代謝過程或反應產生的化合物。該代謝過程或反應可為酶促過程，諸如

ADC之肽連接子之蛋白水解裂解，或諸如脲、酯或醯胺之官能基之水解。細胞內代謝物包括(但不限於)在進入、擴散、吸收或運輸至細胞中後經受細胞內裂解之抗體及游離藥物。

術語"細胞內裂解之"及"細胞內裂解"係指細胞內對抗體-藥物共軛物(ADC)之代謝過程或反應，藉此斷開藥物部分(D)與抗體(Ab)之間的共價連接(亦即連接子)，從而導致在細胞內使游離藥物自抗體解離。因此，ADC之裂解部分為胞內代謝物。

術語"生物可用性"係指向患者投與之給定量之藥物的全身可用性(亦即血液/血漿含量)。生物可用性為指示對藥物自投與劑型達到周身循環之時間(速率)及總量(程度)的量度之絕對術語。

術語"細胞毒性活性"係指ADC或ADC之細胞內代謝物之細胞殺死、細胞抑制或生長抑制效應。細胞毒性活性可以IC_{50}值表示，該IC_{50}值為一半細胞存活時每單位體積之濃度(莫耳濃度或質量)。

如本文所使用，術語"烷基"係指具有一至十二個碳原子(C_1-C_{12})之飽和直鏈或支鏈單價烴基，其中該烷基可視情況獨立地經一或多個下文所述之取代基取代。在另一實施例中，烷基為一至八個碳原子(C_1-C_8)或一至六個碳原子(C_1-C_6)。烷基之實例包括(但不限於)甲基(Me、-CH_3)、乙基(Et、-CH_2CH_3)、1-丙基(n-Pr、正丙基、-$CH_2CH_2CH_3$)、2-丙基(i-Pr、異丙基、-$CH(CH_3)_2$)、1-丁基(n-Bu、正丁基、-$CH_2CH_2CH_2CH_3$)、2-甲基-1-丙基(i-Bu、異丁基、-$CH_2CH(CH_3)_2$)、2-丁基(s-Bu、第二丁基、-$CH(CH_3)CH_2CH_3$)、2-甲基-2-丙基(t-Bu、第三丁基、-$C(CH_3)_3$)、1-戊基(正戊基、-$CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$)、2-戊基(-$CH(CH_3)CH_2CH_2CH_3$)、3-戊基(-$CH(CH_2CH_3)_2$)、2-甲基-2-丁基(-$C(CH_3)_2CH_2CH_3$)、3-甲基-2-丁基(-$CH(CH_3)CH(CH_3)_2$)、3-甲基-1-丁基(-$CH_2CH_2CH(CH_3)_2$)、2-甲基-1-丁基(-$CH_2CH(CH_3)CH_2CH_3$)、1-己基 (-$CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$)、2-己

基(-$CH(CH_3)CH_2CH_2CH_2CH_3$)、3-己基(-$CH(CH_2CH_3)(CH_2CH_2CH_3)$)、2-甲基-2-戊基(-$C(CH_3)_2CH_2CH_2CH_3$)、3-甲基-2-戊基(-$CH(CH_3)CH(CH_3)CH_2CH_3$)、4-甲基-2-戊基(-$CH(CH_3)CH_2CH(CH_3)_2$)、3-甲基-3-戊基(-$C(CH_3)(CH_2CH_3)_2$)、2-甲基-3-戊基(-$CH(CH_2CH_3)CH(CH_3)_2$)、2,3-二甲基-2-丁基(-$C(CH_3)_2CH(CH_3)_2$)、3,3-二甲基-2-丁基(-$CH(CH_3)C(CH_3)_3$)、1-庚基、1-辛基及其類似基團。

術語"烯基"係指具有至少一個不飽和位點(亦即，碳-碳sp^2雙鍵)且具有兩至八個碳原子(C_2-C_8)之直鏈或支鏈單價烴基，其中該烯基可視情況獨立地經一或多個本文所述之取代基取代，且包括具有"順式"及"反式"取向或者"E"及"Z"取向之基團。實例包括(但不限於)乙烯基(-$CH=CH_2$)、烯丙基(-$CH_2CH=CH_2$)及其類似基團。

術語"炔基"係指具有至少一個不飽和位點(亦即，碳-碳sp參鍵)且具有兩至八個碳原子(C_2-C_8)之直鏈或支鏈單價烴基，其中該炔基可視情況獨立地經一或多個本文所述之取代基取代。實例包括(但不限於)乙炔基(-$C\equiv CH$)、丙炔基(炔丙基、-$CH_2C\equiv CH$)及其類似基團。

術語"碳環(carbocycle)"、"碳環基"、"碳環(carbocyclic ring)"及"環烷基"係指具有3至12個碳原子(C_3-C_{12})作為單環或具有7至12個碳原子作為雙環之單價非芳族的飽和或部分不飽和環。具有7至12個原子之雙環碳環可例如排列為雙環[4,5]、[5,5]、[5,6]或[6,6]系統，且具有9或10個環原子之雙環碳環可排列為雙環[5,6]或[6,6]系統，或排列為諸如雙環[2.2.1]庚烷、雙環[2.2.2]辛烷及雙環[3.2.2]壬烷之橋式系統。單環碳環之實例包括(但不限於)環丙基、環丁基、環戊基、1-環戊-1-烯基、1-環戊-2-烯基、1-環戊-3-烯基、環己基、1-環己-1-烯基、1-環己-2-烯基、1-環己-3-烯基、環己二烯基、環庚基、環辛基、環壬基、環癸基、環十一烷基、環十二烷基及其類似基團。

"芳基"意謂藉由自母體芳族環系統之單一碳原子移除一個氫原子

所產生的具有6-20個碳原子(C_6-C_{20})之單價芳族烴基。一些芳基在例示性結構中以"Ar"表示。芳基包括包含與飽和、部分不飽和環或芳族碳環融合之芳族環的雙環基團。典型芳基包括(但不限於)源自以下者之基團：苯(苯基)、經取代之苯、萘、蒽、聯苯、茚基、二氫茚基、1,2-二氫萘、1,2,3,4-四氫萘基及其類似基團。芳基視情況獨立地經一或多個本文所述之取代基取代。

術語"雜環(heterocycle)"、"雜環基"及"雜環(heterocyclic ring)"在本文中可互換使用且係指具有3至20個環原子之飽和或部分不飽和(亦即，環內具有一或多個雙鍵及/或參鍵)的碳環基團，其中至少一個環原子為選自氮、氧、磷及硫之雜原子，其餘環原子為C，其中一或多個環原子視情況獨立地經一或多個下文所述之取代基取代。雜環可為具有3至7個環成員(2至6個碳原子及1至4個選自N、O、P及S之雜原子)之單環或具有7至10個環成員(4至9個碳原子及1至6個選自N、O、P及S之雜原子)之雙環，例如：雙環[4,5]、[5,5]、[5,6]或[6,6]系統。雜環係描述於以下文獻中：Paquette, Leo A.；"Principles of Modern Heterocyclic Chemistry" (W.A. Benjamin, New York, 1968)，尤其第1、3、4、6、7及9章；"The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A series of Monographs" (John Wiley & Sons, New York, 1950年至今)，尤其第13、14、16、19及28卷；及J. Am. Chem. Soc. (1960) 82:5566。"雜環基"亦包括如下基團，其中雜環基團與飽和、部分不飽和環或芳族碳環或雜環融合之基團。雜環之實例包括(但不限於)吡咯啶基、四氫呋喃基、二氫呋喃基、四氫噻吩基、四氫哌喃基、二氫哌喃基、四氫硫代哌喃基、哌啶基、嗎啉基、硫代嗎啉基、氧硫雜環己烷基、哌嗪基、高哌嗪基、吖丁啶基、氧雜環丁烷基、硫雜環丁烷基、高哌啶基、氧雜環庚烷基、硫雜環庚烷基、噁氮呯基、二氮呯基、噻氮呯基、2-吡咯啉基、3-吡咯啉基、吲哚啉基、2H-哌喃基、

4H-哌喃基、二氧雜環己烷基、1,3-二氧戊環基、吡唑啉基、二噻烷基、二硫烷基、二氫哌喃基、二氫噻吩基、二氫呋喃基、吡唑啶基咪唑啶基、咪唑啶基、3-氮雜雙環[3.1.0]己基、3-氮雜雙環[4.1.0]庚基、氮雜雙環[2.2.2]己基、3H-吲哚基、喹噁基及N-吡啶基脲。螺部分亦包括在此定義之範疇內。雜環基團(其中2個環碳原子經側氧基(=O)部分取代)之實例為嘧啶酮基及1,1-二側氧基-硫代嗎啉基。本文中之雜環基團視情況獨立地經一或多個本文所述之取代基取代。

術語"雜芳基"係指5、6或7員環之單價芳基，且包括含有一或多個獨立地選自氮、氧及硫之雜原子之5-20個原子的稠環系統(其中至少一者為芳族系統)。雜芳基之實例為吡啶基(包括例如2-羥基吡啶基)、咪唑基、咪唑幷吡啶基、嘧啶基(包括例如4-羥基嘧啶基)、吡唑基、三唑基、吡噁基、四唑基、呋喃基、噻吩基、異噁唑基、噻唑基、噁唑基、異噻唑基、吡咯基、喹啉基、異喹啉基、吲哚基、苯并咪唑基、苯并呋喃基、咔啉基、吲唑基、吲噁基、酞噁基、噠噁基、三噁基、異吲哚基、喋啶基、嘌呤基、噁二唑基、三唑基、噻二唑基、噻二唑基、呋吖基、苯并呋吖基、苯并噻吩基、苯并噻唑基、苯并噁唑基、喹唑啉基、喹喏啉基、啶啶基及呋喃幷吡啶基。雜芳基視情況獨立地經一或多個本文所述之取代基取代。

雜環或雜芳基可為碳(碳連接)鍵結或氮(氮連接)鍵結於可能鍵結之處。舉例而言(但不帶限制性)，碳鍵結雜環或雜芳基係鍵結於吡啶之位置2、3、4、5或6處，噠噁之位置3、4、5或6處，嘧啶之位置2、4、5或6處，吡噁之位置2、3、5或6處，呋喃、四氫呋喃、硫代呋喃、噻吩、吡咯或四氫吡咯之位置2、3、4或5處，噁唑、咪唑或噻唑之位置2、4或5處，異噁唑、吡唑或異噻唑之位置3、4或5處，氮丙啶之位置2或3處，吖丁啶之位置2、3或4處，喹啉之位置2、3、4、5、6、7或8處或異喹啉之位置1、3、4、5、6、7或8處。

舉例而言(但不帶限制性)，氮鍵結雜環或雜芳基係鍵結於氮丙啶、吖丁啶、吡咯、吡咯啶、2-吡咯啉、3-吡咯啉、咪唑、咪唑啶、2-咪唑啉、3-咪唑啉、吡唑、吡唑啉、2-吡唑啉、3-吡唑啉、哌啶、哌嗪、吲哚、吲哚啉、1H-吲唑之位置1處，異吲哚或異吲哚啉之位置2處，嗎啉之位置4處，及咔唑或β-咔啉之位置9處。

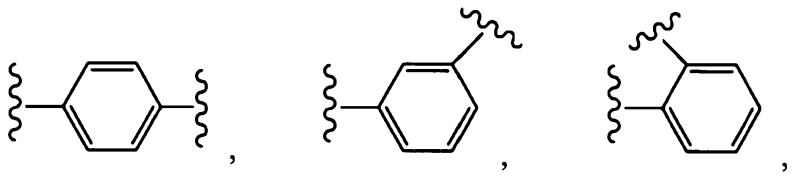
"伸烷基"係指具有1-18個碳原子且具有藉由自母體烷烴之同一碳原子或兩個不同碳原子移除兩個氫原子所產生之兩個單價基團中心的飽和支鏈或直鏈或環烴基。典型伸烷基包括(但不限於)：亞甲基(-CH_2-)、1,2-乙基(-CH_2CH_2-)、1,3-丙基(-$CH_2CH_2CH_2$-)、1,4-丁基(-$CH_2CH_2CH_2CH_2$-)及其類似基團。

"C_1-C_{10}伸烷基"為式-$(CH_2)_{1-10}$-之直鏈、飽和烴基。C_1-C_{10}伸烷基之實例包括亞甲基、伸乙基、伸丙基、伸丁基、伸戊基、伸己基、伸庚基、伸辛基、伸壬基及伸癸基。

"伸烯基"係指具有2-18個碳原子且具有藉由自母體烯烴之同一碳原子或兩個不同碳原子移除兩個氫原子所產生之兩個單價基團中心的不飽和支鏈或直鏈或環烴基。典型伸烯基包括(但不限於)：1,2-伸乙基(-CH=CH-)。

"伸炔基"係指具有2-18個碳原子且具有藉由自母體炔烴之同一碳原子或兩個不同碳原子移除兩個氫原子所產生之兩個單價基團中心的不飽和支鏈或直鏈或環烴基。典型伸炔基包括(但不限於)：乙炔(-C≡C-)、炔丙基(-CH_2C≡C-)及4-戊炔基(-$CH_2CH_2CH_2$C≡C-)。

"伸芳基"為具有兩個共價鍵且可呈如下列結構所示之鄰位、間位或對位構型之芳基：



其中苯基可未經取代或經至多四個基團取代，該等基團包括(但不限於)-C_1-C_8烷基、-O-(C_1-C_8烷基)、-芳基、-C(O)R'、-OC(O)R'、-C(O)OR'、-$C(O)NH_2$、-C(O)NHR'、-$C(O)N(R')_2$、-NHC(O)R'、-$S(O)_2R'$、-S(O)R'、-OH、-鹵素、-N_3、-NH_2、-NH(R')、-$N(R')_2$及-CN；其中R'各自獨立地選自H、-C_1-C_8烷基及芳基。

"芳基烷基"係指鍵結於碳原子(通常為末端或sp^3碳原子)之氫原子中之一者經芳基置換之非環狀烷基。典型芳基烷基包括(但不限於)苄基、2-苯基乙-1-基、2-苯基乙烯-1-基、萘基甲基、2-萘基乙-1-基、2-萘基乙烯-1-基、萘幷苄基、2-萘幷苯基乙-1-基及其類似基團。芳基烷基包含6至20個碳原子，例如芳基烷基之烷基部分(包括烷基、烯基或炔基)為1至6個碳原子且芳基部分為5至14個碳原子。

"雜芳基烷基"係指鍵結於碳原子(通常為末端或sp^3碳原子)之氫原子中之一者經雜芳基置換之非環狀烷基。典型雜芳基烷基包括(但不限於)2-苯并咪唑基甲基、2-呋喃基乙基及其類似基團。雜芳基烷基包含6至20個碳原子，例如雜芳基烷基之烷基部分(包括烷基、烯基或炔基)為1至6個碳原子且雜芳基部分為5至14個碳原子及1至3個選自N、O、P及S之雜原子。雜芳基烷基之雜芳基部分可為具有3至7個環成員(2至6個碳原子)之單環或具有7至10個環成員(4至9個碳原子及1至3個選自N、O、P及S之雜原子)之雙環，例如：雙環[4,5]、[5,5]、[5,6]或[6,6]系統。

如本申請案中所使用之術語"前藥"係指本發明之化合物之前驅體或衍生物形式，其與母體化合物或藥物相比對細胞之細胞毒性可為較小且能夠被酶促或水解活化或轉化為更具活性之母體形式。參見(例如)Wilman, "Prodrugs in Cancer Chemotherapy" Biochemical Society Transactions, 14，第375-382頁，615th Meeting Belfast (1986)及Stella等人，"Prodrugs: A Chemical Approach to Targeted Drug Delivery,"

Directed Drug Delivery, Borchardt等人，(編)，第247-267頁，Humana Press (1985)。本發明之前藥包括(但不限於)含有磷酸鹽之前藥、含有硫代磷酸鹽之前藥、含有硫酸鹽之前藥、含有肽之前藥、經D-胺基酸修飾之前藥、糖基化前藥、含有β-內醯胺之前藥、含有視情況經取代之苯氧基乙醯胺的前藥、含有視情況經取代之苯基乙醯胺的前藥、5-氟胞嘧啶及其他5-氟尿苷前藥，其可轉化為更具活性之細胞毒性游離藥物。可衍生成前藥形式以供本發明使用的細胞毒性藥物之實例包括(但不限於)本發明之化合物及化學治療劑，諸如上文所述者。

"代謝物"為經由指定化合物或其鹽在身體內代謝所產生之產物。化合物之代謝物可使用此項技術中已知之常規技術來鑑別且其活性可使用諸如本文所述之彼等者之測試來測定。該等產物可例如由所投與化合物之氧化、還原、水解、醯胺化、脫醯胺、酯化、脫酯、酶促裂解及其類似方式產生。因此，本發明包括本發明之化合物之代謝物，包括藉由包含使本發明之化合物與哺乳動物接觸足以產生代謝產物之時間段的方法所產生之化合物。

"脂質體"為由適用於將藥物傳遞至哺乳動物之各種類型之脂質、磷脂及/或界面活性劑構成的小泡。脂質體之組分通常排列成雙層構造，類似於生物膜之脂質排列。

"連接子"係指使抗體共價連接於藥物部分之包含共價鍵或原子鏈之化學部分。在各種實施例中，連接子包括二價基團，諸如烷二基、芳二基、雜芳二基、諸如$-(CR_2)_nO(CR_2)_n-$之部分、烷氧基(例如聚伸乙基氧基、PEG、聚亞甲基氧基)及烷基胺基(例如聚伸乙基胺基、Jeffamine™)之重複單元；以及二元酸酯及醯胺類，包括丁二酸酯、丁二酸醯胺、二乙醇酸酯、丙二酸酯及己醯胺。

術語"對掌性"係指具有對於鏡像搭配物之不重疊性之特性的分子，而術語"非對掌性"係指可與鏡像搭配物重疊之分子。

術語"立體異構體"係指具有一致化學組成、但原子或基團之空間排列不同之化合物。

"非對映異構體"係指具有兩個或兩個以上對掌性中心且分子間互相不為鏡像之立體異構體。非對映異構體具有不同物理特性，例如熔點、沸點、光譜特性及反應性。非對映異構體之混合物可藉由高解析度分析程序分離，諸如電泳及層析。

"對映異構體"係指互相為不可重疊之鏡像的一種化合物之兩種立體異構體。

本文中所使用之立體化學定義及慣例一般遵循S. P. Parker編，*McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms* (1984) McGraw-Hill Book Company, New York；及Eliel, E.及Wilen, S., *Stereochemistry of Organic Compounds* (1994) John Wiley & Sons, Inc., New York。許多有機化合物以光學活性形式存在，亦即其具有使平面偏振光之平面旋轉之能力。在描述光學活性化合物時，字首D及L或*R*及*S*用於表示分子關於其對掌性中心之絕對構型。字首d及l或(+)及(-)用於表示化合物使平面偏振光旋轉之符號，其中(-)或l意謂化合物為左旋的。字首為(+)或d之化合物為右旋的。對於給定化學結構而言，此等立體異構體除了其互相為鏡像外為相同的。特定立體異構體亦可稱為對映異構體，且該等異構體之混合物常常被稱為對映異構混合物。對映異構體之50:50混合物被稱為外消旋混合物或外消旋體，其可在化學反應或過程中不存在立體選擇性或立體專一性之情況下出現。術語"外消旋混合物"及"外消旋體"係指兩種對映異構物質之等莫耳混合物，但其無光學活性。

術語"互變異構體"或"互變異構形式"係指具不同能量之結構異構體，其可經由低能量障壁互相轉化。舉例而言，質子互變異構體(亦稱為質子移變互變異構體)包括經由質子遷移而互相轉化，諸如酮-烯

醇及亞胺-烯胺異構化。價鍵互變異構體包括藉由重組一些成鍵電子而互相轉化。

如本文所使用之片語"醫藥學上可接受之鹽"係指本發明之化合物的醫藥學上可接受之有機或無機鹽。例示性鹽包括(但不限於)硫酸鹽、檸檬酸鹽、乙酸鹽、草酸鹽、氯化物、溴化物、碘化物、硝酸鹽、硫酸氫鹽、磷酸鹽、酸式磷酸鹽、異煙酸鹽、乳酸鹽、水楊酸鹽、酸式檸檬酸鹽、酒石酸鹽、油酸鹽、丹寧酸鹽、泛酸鹽、酒石酸氫鹽、抗壞血酸鹽、丁二酸鹽、順丁烯二酸鹽、龍膽酸鹽(gentisinate)、反丁烯二酸鹽、葡糖酸鹽、葡萄糖醛酸鹽、葡萄糖二酸鹽、甲酸鹽、苯甲酸鹽、麩胺酸鹽、甲烷磺酸鹽"甲磺酸鹽"、乙烷磺酸鹽、苯磺酸鹽、對甲苯磺酸鹽及雙羥萘酸鹽(亦即1,1'-亞甲基-雙(2-羥基-3-萘甲酸鹽))鹽。醫藥學上可接受之鹽可涉及包括諸如乙酸根離子、丁二酸根離子或其他抗衡離子之另一分子。該抗衡離子可為使母體化合物上之電荷穩定的任何有機或無機部分。此外，醫藥學上可接受之鹽可於其結構中具有一個以上帶電原子。多個帶電原子為醫藥學上可接受之鹽之部分的情況可具有多個抗衡離子。因此，醫藥學上可接受之鹽可具有一或多個帶電原子及/或一或多個抗衡離子。

若本發明之化合物為鹼，則所需醫藥學上可接受之鹽可藉由此項技術中可利用之任何合適之方法來製備，例如用下列酸處理游離鹼：無機酸，諸如鹽酸、氫溴酸、硫酸、硝酸、甲烷磺酸、磷酸及其類似酸；或有機酸，諸如乙酸、三氟乙酸、順丁烯二酸、丁二酸、扁桃酸、反丁烯二酸、丙二酸、丙酮酸、草酸、乙醇酸、水楊酸、哌喃糖酸(pyranosidyl acid)(諸如葡糖醛酸或半乳糖醛酸)、α羥酸(諸如檸檬酸或酒石酸)、胺基酸(諸如天冬胺酸或麩胺酸)、芳族酸(諸如苯甲酸或肉桂酸)、磺酸(諸如對甲苯磺酸或乙烷磺酸)或其類似酸。

若本發明之化合物為酸，則所需醫藥學上可接受之鹽可藉由任

何合適之方法來製備，例如用諸如胺(第一、第二或第三胺)、鹼金屬氫氧化物或鹼土金屬氫氧化物或其類似物之無機鹼或有機鹼處理游離酸。合適之鹽之說明性實例包括(但不限於)源自胺基酸(諸如甘胺酸及精胺酸)、氨、第一胺、第二胺及第三胺及環胺(諸如哌啶、嗎啉及哌嗪)之有機鹽，及源自鈉、鈣、鉀、鎂、錳、鐵、銅、鋅、鋁及鋰之無機鹽。

片語"醫藥學上可接受之"指示物質或組合物必須與構成調配物之其他成份及/或所治療之哺乳動物在化學上及/或毒理學上相容。

"溶劑合物"係指一或多種溶劑分子與本發明之化合物之締合物或複合物。形成溶劑合物之溶劑之實例包括(但不限於)水、異丙醇、乙醇、甲醇、DMSO、乙酸乙酯、乙酸及乙醇胺。術語"水合物"係指溶劑分子為水之複合物。

術語"保護基"係指通常用於阻斷或保護特定官能基同時使化合物上之其他官能基反應之取代基。舉例而言，"胺基保護基"為連接於胺基之取代基，其阻斷或保護化合物中之胺基官能基。合適之胺基保護基包括乙醯基、三氟乙醯基、第三丁氧基羰基(BOC)、苄氧羰基(CBZ)及9-芴基甲氧基羰基(Fmoc)。類似地，"羥基保護基"係指阻斷或保護羥基官能基之羥基之取代基。合適之保護基包括乙醯基及矽烷基。"羧基保護基"係指阻斷或保護羧基官能基之羧基之取代基。常見羧基保護基包括苯基磺醯基乙基、氰基乙基、2-(三甲基矽烷基)乙基、2-(三甲基矽烷基)乙氧基甲基、2-(對甲苯磺醯基)乙基、2-(對硝基苯基次磺醯基)乙基、2-(二苯基膦基)-乙基、硝基乙基及其類似基團。關於保護基及其用途之概述，參見T. W. Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons, New York, 1991。

"離去基"係指可經另一官能基取代之官能基。某些離去基為此項技術中所熟知，且實例包括(但不限於)鹵化物(例如氯化物、溴化物、

碘化物)、甲烷磺醯基(甲磺醯基)、對甲苯磺醯基(甲苯磺醯基)、三氟甲基磺醯基(三氟甲磺酸酯基)及三氟甲基磺酸酯基。

縮寫

連接子組分：

MC=6-順丁烯二醯亞胺基己醯基

Val-Cit或"vc"=纈胺酸-瓜胺酸(蛋白酶可裂解之連接子中的例示性二肽)

瓜胺酸=2-胺基-5-脲基戊酸

PAB=對胺基苄氧羰基("自我犧牲型"連接子組分之實例)

Me-Val-Cit=N-甲基-纈胺酸-瓜胺酸(其中連接子肽鍵已經修飾以防止其被組織蛋白酶B裂解)

MC(PEG)6-OH=順丁烯二醯亞胺基己醯基-聚乙二醇(可連接於抗體半胱胺酸)。

細胞毒性藥物：

MMAE=單甲基奧瑞他汀E(MW 718)

MMAF=於藥物之C末端處具有苯丙胺酸之奧瑞他汀E(MMAE)的變異體(MW 731.5)

MMAF-DMAEA=具有以醯胺鍵連接至C末端苯丙胺酸之DMAEA(二甲基胺基乙胺)之MMAF(MW 801.5)

MMAF-TEG=具有與苯丙胺酸發生酯化之四乙二醇之MMAF

MMAF-NtBu=N-第三丁基，以醯胺形式連接於MMAF之C末端

DM1=N(2')-脫乙醯基-N(2')-(3-巰基-1-側氧基丙基)-美登素

DM3=N(2')-脫乙醯基-N2-(4-巰基-1-側氧基戊基)-美登素

DM4=N(2')-脫乙醯基-N2-(4-巰基-4-甲基-1-側氧基戊基)-美登素

其他縮寫如下：AE為奧瑞他汀E，Boc為*N*-(第三丁氧基羰基)，cit為瓜胺酸，dap為多拉脯胺酸(dolaproine)，DCC為1,3-二環己基碳

化二亞胺，DCM為二氯甲烷，DEA為二乙胺，DEAD為偶氮二甲酸二乙酯，DEPC為氰代磷酸二乙酯，DIAD為偶氮二甲酸二異丙酯，DIEA為*N,N*-二異丙基乙胺，dil為多拉異白胺酸(dolaisoleucine)，DMA為二甲基乙醯胺，DMAP為4-二甲基胺基吡啶，DME為乙二醇二甲醚(或1,2-二甲氧基乙烷)，DMF為*N,N*-二甲基甲醯胺，DMSO為二甲亞碸，doe為多拉非寧(dolaphenine)，dov為*N,N*-二甲基纈胺酸，DTNB為5,5'-二硫基雙(2-硝基苯甲酸)，DTPA為二伸乙基三胺五乙酸，DTT為二硫蘇糖醇，EDCI為1-(3-二甲基胺基丙基)-3-乙基碳化二亞胺鹽酸鹽，EEDQ為2-乙氧基-1-乙氧羰基-1,2-二氫喹啉，ES-MS為電噴質譜法，EtOAc為乙酸乙酯，Fmoc為*N*-(9-芴基甲氧基羰基)，gly為甘胺酸，HATU為六氟磷酸*O*-(7-氮雜苯并三唑-1-基)-*N,N,N',N'*-四甲基鋁，HOBt為1-羥基苯并三唑，HPLC為高壓液相層析法，ile為異白胺酸，lys為離胺酸，MeCN(CH_3CN)為乙腈，MeOH為甲醇，Mtr為4-甲氧基苄基二苯基甲基(或4-甲氧基三苯甲基)，nor為(*1S,2R*)-(+)-去甲麻黃鹼，PBS為磷酸鹽緩衝生理食鹽水(pH 7.4)，PEG為聚乙二醇，Ph為苯基，Pnp為對硝基苯基，MC為6-順丁烯二醯亞胺基己醯基，phe為L-苯丙胺酸，PyBrop為六氟磷酸溴參-吡咯啶基鏻，SEC為尺寸排阻層析法，Su為丁二醯亞胺，TFA為三氟乙酸，TLC為薄層層析法，UV為紫外線，且val為纈胺酸。

"游離半胱胺酸胺基酸"係指已工程化至親本抗體中、具有硫醇官能基(-SH)且未以分子內或分子間二硫橋配對之半胱胺酸胺基酸殘基。

術語"硫醇反應性值"為游離半胱胺酸胺基酸之反應性之定量表徵。該硫醇反應性值為與硫醇反應性試劑反應之半胱胺酸工程化抗體中游離半胱胺酸胺基酸之百分比，且被換算為最大值1。舉例而言，以100%產率與硫醇反應性試劑(諸如生物素-順丁烯二醯亞胺試劑)反

應以形成生物素標記抗體的半胱胺酸工程化抗體上之游離半胱胺酸胺基酸具有1.0之硫醇反應性值。另一被工程化至相同或不同親本抗體中且以80%產率與硫醇反應性試劑反應之半胱胺酸胺基酸具有0.8之硫醇反應性值。另一被工程化至相同或不同親本抗體中且完全不能與硫醇反應性試劑反應之半胱胺酸胺基酸具有0之硫醇反應性值。特定半胱胺酸之硫醇反應性值之測定可藉由ELISA檢定、質譜法、液相層析法、自動放射照相術或其他定量分析測試來進行。

"親本抗體"為包含一段胺基酸序列且該胺基酸序列中之一或多個胺基酸殘基由一或多個半胱胺酸殘基置換的抗體。該親本抗體可包含天然或野生型序列。相對於其他天然、野生型或經修飾形式之抗體而言，親本抗體可具有預先存在之胺基酸序列修飾(諸如添加、缺失及/或取代)。親本抗體可針對所關注之靶抗原，例如生物學上重要之多肽。亦涵蓋針對非多肽抗原(諸如腫瘤相關糖脂抗原；參見US 5091178)之抗體。

表1

```
/*
 *
 * C-C increased from 12 to 15
 * Z is average of EQ
 * B is average of ND
 * match with stop is _M; stop-stop = 0; J (joker) match = 0
 */
#define  _M      -8          /* value of a match with a stop */

int      _day[26][26] = {
/*     A  B  C  D  E  F  G  H  I  J  K  L  M  N  O  P  Q  R  S  T  U  V  W  X  Y  Z */
/* A */   { 2, 0,-2, 0, 0,-4, 1,-1,-1, 0,-1,-2,-1, 0,_M, 1, 0,-2, 1, 1, 0, 0,-6, 0,-3, 0},
/* B */   { 0, 3,-4, 3, 2,-5, 0, 1,-2, 0, 0,-3,-2, 2,_M,-1, 1, 0, 0, 0, 0,-2,-5, 0,-3, 1},
/* C */   {-2,-4,15,-5,-5,-4,-3,-3,-2, 0,-5,-6,-5,-4,_M,-3,-5,-4, 0,-2, 0,-2,-8, 0, 0,-5},
/* D */   { 0, 3,-5, 4, 3,-6, 1, 1,-2, 0, 0,-4,-3, 2,_M,-1, 2,-1, 0, 0, 0,-2,-7, 0,-4, 2},
/* E */   { 0, 2,-5, 3, 4,-5, 0, 1,-2, 0, 0,-3,-2, 1,_M,-1, 2,-1, 0, 0, 0,-2,-7, 0,-4, 3},
/* F */   {-4,-5,-4,-6,-5, 9,-5,-2, 1, 0,-5, 2, 0,-4,_M,-5,-5,-4,-3,-3, 0,-1, 0, 0, 7,-5},
/* G */   { 1, 0,-3, 1, 0,-5, 5,-2,-3, 0,-2,-4,-3, 0,_M,-1,-1,-3, 1, 0, 0,-1,-7, 0,-5, 0},
/* H */   {-1, 1,-3, 1, 1,-2,-2, 6,-2, 0, 0,-2,-2, 2,_M, 0, 3, 2,-1,-1, 0,-2,-3, 0, 0, 2},
/* I */   {-1,-2,-2,-2,-2, 1,-3,-2, 5, 0,-2, 2, 2,-2,_M,-2,-2,-2,-1, 0, 0, 4,-5, 0,-1,-2},
/* J */   { 0, 0, 0, 0, 0, 0. 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0,_M, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0},
/* K */   {-1, 0,-5, 0, 0,-5,-2, 0,-2, 0, 5,-3, 0, 1,_M,-1, 1, 3, 0, 0, 0,-2,-3, 0,-4, 0},
/* L */   {-2,-3,-6,-4,-3, 2,-4,-2, 2, 0,-3, 6, 4,-3,_M,-3,-2,-3,-3,-1, 0, 2,-2, 0,-1,-2},
/* M */   {-1,-2,-5,-3,-2, 0,-3,-2. 2, 0, 0, 4, 6,-2,_M,-2,-1, 0,-2,-1, 0, 2,-4, 0,-2,-1},
/* N */   { 0, 2,-4, 2, 1,-4, 0, 2,-2, 0, 1,-3,-2, 2,_M,-1, 1, 0, 1, 0, 0,-2,-4, 0,-2, 1},
/* O */   {_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M, 0,_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M},
/* P */   { 1,-1,-3,-1,-1,-5,-1, 0,-2, 0,-1,-3,-2,-1,_M, 6, 0, 0, 1, 0, 0,-1,-6, 0,-5, 0},
/* Q */   { 0, 1,-5, 2, 2,-5,-1, 3,-2, 0, 1,-2,-1, 1,_M, 0, 4, 1,-1,-1, 0,-2,-5, 0,-4, 3},
/* R */   {-2, 0,-4,-1,-1,-4,-3, 2,-2, 0, 3,-3, 0, 0,_M, 0, 1, 6, 0,-1, 0,-2, 2, 0,-4, 0},
/* S */   { 1, 0, 0, 0, 0,-3, 1,-1,-1, 0, 0,-3,-2, 1,_M, 1,-1, 0, 2, 1, 0,-1,-2, 0,-3, 0},
/* T */   { 1, 0,-2, 0, 0,-3, 0,-1, 0, 0, 0,-1,-1, 0,_M, 0,-1,-1, 1, 3, 0, 0,-5, 0,-3, 0},
/* U */   { 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0,_M, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0},
/* V */   { 0,-2,-2,-2,-2,-1,-1,-2, 4, 0,-2, 2, 2,-2,_M,-1,-2,-2,-1, 0, 0, 4,-6, 0,-2,-2},
/* W */   {-6,-5,-8,-7,-7, 0,-7,-3,-5, 0,-3,-2,-4,-4,_M,-6,-5, 2,-2,-5, 0,-6,17, 0, 0,-6},
/* X */   { 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0,_M, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0},
/* Y */   {-3,-3, 0,-4,-4, 7,-5, 0,-1, 0,-4,-1,-2,-2,_M,-5,-4,-4,-3,-3, 0,-2, 0, 0,10,-4},
/* Z */   { 0, 1,-5, 2, 3,-5, 0, 2,-2, 0, 0,-2,-1, 1,_M, 0, 3, 0, 0, 0, 0,-2,-6, 0,-4, 4}
};
```

表1(續)

```
/*
 */
#include <stdio.h>
#include <ctype.h>

#define  MAXJMP          16      /* max jumps in a diag */
#define  MAXGAP          24      /* don't continue to penalize gaps larger than this */
#define  JMPS            1024    /* max jmps in an path */
#define  MX              4       /* save if there's at least MX-1 bases since last jmp */

#define  DMAT            3       /* value of matching bases */
#define  DMIS            0       /* penalty for mismatched bases */
#define  DINS0           8       /* penalty for a gap */
#define  DINS1           1       /* penalty per base */
#define  PINS0           8       /* penalty for a gap */
#define  PINS1           4       /* penalty per residue */

struct jmp {
        short           n[MAXJMP];      /* size of jmp (neg for dely) */
        unsigned short  x[MAXJMP];      /* base no. of jmp in seq x */
};                                      /* limits seq to 2^16 -1 */

struct diag {
        int             score;          /* score at last jmp */
        long            offset;         /* offset of prev block */
        short           ijmp;           /* current jmp index */
        struct jmp      jp;             /* list of jmps */
};

struct path {
        int     spc;            /* number of leading spaces */
        short   n[JMPS];/* size of jmp (gap) */
        int     x[JMPS];/* loc of jmp (last elem before gap) */
};

char            *ofile;                 /* output file name */
char            *namex[2];              /* seq names: getseqs() */
char            *prog;                  /* prog name for err msgs */
char            *seqx[2];               /* seqs: getseqs() */
int             dmax;                   /* best diag: nw() */
int             dmax0;                  /* final diag */
int             dna;                    /* set if dna: main() */
int             endgaps;                /* set if penalizing end gaps */
int             gapx, gapy;             /* total gaps in seqs */
int             len0, len1;             /* seq lens */
int             ngapx, ngapy;           /* total size of gaps */
int             smax;                   /* max score: nw() */
int             *xbm;                   /* bitmap for matching */
long            offset;                 /* current offset in jmp file */
struct  diag    *dx;                    /* holds diagonals */
struct  path    pp[2];                  /* holds path for seqs */

char            *calloc(), *malloc(), *index(), *strcpy();
char            *getseq(), *g_calloc();
```

表1(續)

```
/* Needleman-Wunsch alignment program
 *
 * usage: progs file1 file2
 *  where file1 and file2 are two dna or two protein sequences.
 *  The sequences can be in upper- or lower-case an may contain ambiguity
 *  Any lines beginning with ';', '>' or '<' are ignored
 *  Max file length is 65535 (limited by unsigned short x in the jmp struct)
 *  A sequence with 1/3 or more of its elements ACGTU is assumed to be DNA
 *  Output is in the file "align.out"
 *
 * The program may create a tmp file in /tmp to hold info about traceback.
 * Original version developed under BSD 4.3 on a vax 8650
 */
#include "nw.h"
#include "day.h"

static    _dbval[26] = {
        1,14,2,13,0,0,4,11,0,0,12,0,3,15,0,0,0,5,6,8,8,7,9,0,10,0
};

static    _pbval[26] = {
        1, 2|(1<<('D'-'A'))|(1<<('N'-'A')), 4, 8, 16, 32, 64,
        128, 256, 0xFFFFFFF, 1<<10, 1<<11, 1<<12, 1<<13, 1<<14,
        1<<15, 1<<16, 1<<17, 1<<18, 1<<19, 1<<20, 1<<21, 1<<22,
        1<<23, 1<<24, 1<<25|(1<<('E'-'A'))|(1<<('Q'-'A'))
};

main(ac, av)                                                                    main
        int     ac;
        char    *av[];
{
        prog = av[0];
        if(ac != 3) {
                fprintf(stderr,"usage: %s file1 file2\n", prog);
                fprintf(stderr,"where file1 and file2 are two dna or two protein sequences.\n");
                fprintf(stderr,"The sequences can be in upper- or lower-case\n");
                fprintf(stderr,"Any lines beginning with ';' or '<' are ignored\n");
                fprintf(stderr,"Output is in the file \"align.out\"\n");
                exit(1);
        }
        namex[0] = av[1];
        namex[1] = av[2];
        seqx[0] = getseq(namex[0], &len0);
        seqx[1] = getseq(namex[1], &len1);
        xbm = (dna)? _dbval : _pbval;

        endgaps = 0;                    /* 1 to penalize endgaps */
        ofile = "align.out";            /* output file */

        nw();                   /* fill in the matrix, get the possible jmps */
        readjmps();             /* get the actual jmps */
        print();                /* print stats, alignment */

        cleanup(0);             /* unlink any tmp files */}
```

表1(續)

```
/* do the alignment, return best score: main()
 * dna: values in Fitch and Smith, PNAS, 80, 1382-1386, 1983
 * pro: PAM 250 values
 * When scores are equal, we prefer mismatches to any gap, prefer
 * a new gap to extending an ongoing gap, and prefer a gap in seqx
 * to a gap in seq y.
 */
nw()                                                                    nw
{
        char            *px, *py;       /* seqs and ptrs */
        int             *ndely, *dely;  /* keep track of dely */
        int             ndelx, delx;    /* keep track of delx */
        int             *tmp;           /* for swapping row0, row1 */
        int             mis;            /* score for each type */
        int             ins0, ins1;     /* insertion penalties */
        register        id;             /* diagonal index */
        register        ij;             /* jmp index */
        register        *col0, *col1;   /* score for curr, last row */
        register        xx, yy;         /* index into seqs */

        dx = (struct diag *)g_calloc("to get diags", len0+len1+1, sizeof(struct diag));
        ndely = (int *)g_calloc("to get ndely", len1+1, sizeof(int));
        dely = (int *)g_calloc("to get dely", len1+1, sizeof(int));
        col0 = (int *)g_calloc("to get col0", len1+1, sizeof(int));
        col1 = (int *)g_calloc("to get col1", len1+1, sizeof(int));
        ins0 = (dna)? DINS0 : PINS0;
        ins1 = (dna)? DINS1 : PINS1;
        smax = -10000;
        if (endgaps) {
                for (col0[0] = dely[0] = -ins0, yy = 1; yy <= len1; yy++) {
                        col0[yy] = dely[yy] = col0[yy-1] - ins1;
                        ndely[yy] = yy;
                }
                col0[0] = 0;            /* Waterman Bull Math Biol 84 */
        }
        else
                for (yy = 1; yy <= len1; yy++)
                        dely[yy] = -ins0;
        /* fill in match matrix
         */
        for (px = seqx[0], xx = 1; xx <= len0; px++, xx++) {
                /* initialize first entry in col
                 */
                if (endgaps) {
                        if (xx == 1)
                                col1[0] = delx = -(ins0+ins1);
                        else
                                col1[0] = delx = col0[0] - ins1;
                        ndelx = xx;
                }
                else {
                        col1[0] = 0;
                        delx = -ins0;
                        ndelx = 0;
                }
```

表1(續)

...nw

```
for (py = seqx[1], yy = 1; yy <= len1; py++, yy++) {
        mis = col0[yy-1];
        if (dna)
                mis += (xbm[*px-'A']&xbm[*py-'A'])? DMAT : DMIS;
        else
                mis += _day[*px-'A'][*py-'A'];

        /* update penalty for del in x seq;
         * favor new del over ongong del
         * ignore MAXGAP if weighting endgaps
         */
        if (endgaps || ndely[yy] < MAXGAP) {
                if (col0[yy] - ins0 >= dely[yy]) {
                        dely[yy] = col0[yy] - (ins0+ins1);
                        ndely[yy] = 1;
                } else {
                        dely[yy] -= ins1;
                        ndely[yy]++;
                }
        } else {
                if (col0[yy] - (ins0+ins1) >= dely[yy]) {
                        dely[yy] = col0[yy] - (ins0+ins1);
                        ndely[yy] = 1;
                } else
                        ndely[yy]++;
        }

        /* update penalty for del in y seq;
         * favor new del over ongong del
         */
        if (endgaps || ndelx < MAXGAP) {
                if (col1[yy-1] - ins0 >= delx) {
                        delx = col1[yy-1] - (ins0+ins1);
                        ndelx = 1;
                } else {
                        delx -= ins1;
                        ndelx++;
                }
        } else {
                if (col1[yy-1] - (ins0+ins1) >= delx) {
                        delx = col1[yy-1] - (ins0+ins1);
                        ndelx = 1;
                } else
                        ndelx++;
        }

        /* pick the maximum score; we're favoring
         * mis over any del and delx over dely
         */
```

...nw

```
        id = xx - yy + len1 - 1;
        if (mis >= delx && mis >= dely[yy])
                col1[yy] = mis;
```

表1(續)

```
                else if (delx >= dely[yy]) {
                        col1[yy] = delx;
                        ij = dx[id].ijmp;
                        if (dx[id].jp.n[0] && (!dna || (ndelx >= MAXJMP
                        && xx > dx[id].jp.x[ij]+MX) || mis > dx[id].score+DINS0)) {
                                dx[id].ijmp++;
                                if (++ij >= MAXJMP) {
                                        writejmps(id);
                                        ij = dx[id].ijmp = 0;
                                        dx[id].offset = offset;
                                        offset += sizeof(struct jmp) + sizeof(offset);
                                }
                        }
                        dx[id].jp.n[ij] = ndelx;
                        dx[id].jp.x[ij] = xx;
                        dx[id].score = delx;
                }
                else {
                        col1[yy] = dely[yy];
                        ij = dx[id].ijmp;
if (dx[id].jp.n[0] && (!dna || (ndely[yy] >= MAXJMP
                        && xx > dx[id].jp.x[ij]+MX) || mis > dx[id].score+DINS0)) {
                                dx[id].ijmp++;
                                if (++ij >= MAXJMP) {
                                        writejmps(id);
                                        ij = dx[id].ijmp = 0;
                                        dx[id].offset = offset;
                                        offset += sizeof(struct jmp) + sizeof(offset);
                                }
                        }
                        dx[id].jp.n[ij] = -ndely[yy];
                        dx[id].jp.x[ij] = xx;
                        dx[id].score = dely[yy];
                }
                if (xx == len0 && yy < len1) {
                        /* last col
                         */
                        if (endgaps)
                                col1[yy] -= ins0+ins1*(len1-yy);
                        if (col1[yy] > smax) {
                                smax = col1[yy];
                                dmax = id;
                        }
                }
        }
        if (endgaps && xx < len0)
                col1[yy-1] -= ins0+ins1*(len0-xx);
        if (col1[yy-1] > smax) {
                smax = col1[yy-1];
                dmax = id;
        }
                                                        tmp = col0; col0 = col1; col1 = tmp;            }
(void) free((char *)ndely);
(void) free((char *)dely);
(void) free((char *)col0);
                                        (void) free((char *)col1);                      }
```

表1(續)

```
/*
 *
 * print() -- only routine visible outside this module
 *
 * static:
 * getmat() -- trace back best path, count matches: print()
 * pr_align() -- print alignment of described in array p[]: print()
 * dumpblock() -- dump a block of lines with numbers, stars: pr_align()
 * nums() -- put out a number line: dumpblock()
 * putline() -- put out a line (name, [num], seq, [num]): dumpblock()
 * stars() - -put a line of stars: dumpblock()
 * stripname() -- strip any path and prefix from a seqname
 */

#include "nw.h"

#define SPC     3
#define P_LINE  256     /* maximum output line */
#define P_SPC   3       /* space between name or num and seq */

extern  _day[26][26];
int     olen;           /* set output line length */
FILE    *fx;            /* output file */

print()                                                                 print
{
        int     lx, ly, firstgap, lastgap;      /* overlap */

        if ((fx = fopen(ofile, "w")) == 0) {
                fprintf(stderr,"%s: can't write %s\n", prog, ofile);
                cleanup(1);
        }
        fprintf(fx, "<first sequence: %s (length = %d)\n", namex[0], len0);
        fprintf(fx, "<second sequence: %s (length = %d)\n", namex[1], len1);
        olen = 60;
        lx = len0;
        ly = len1;
        firstgap = lastgap = 0;
        if (dmax < len1 - 1) {          /* leading gap in x */
                pp[0].spc = firstgap = len1 - dmax - 1;
                ly -= pp[0].spc;
        }
        else if (dmax > len1 - 1) {     /* leading gap in y */
                pp[1].spc = firstgap = dmax - (len1 - 1);
                lx -= pp[1].spc;
        }
        if (dmax0 < len0 - 1) {         /* trailing gap in x */
                lastgap = len0 - dmax0 -1;
                lx -= lastgap;
        }
        else if (dmax0 > len0 - 1) {    /* trailing gap in y */
                lastgap = dmax0 - (len0 - 1);
                ly -= lastgap;
        }
        getmat(lx, ly, firstgap, lastgap);
                        pr_align();         }
```

表1(續)

getmat

```
/*
 * trace back the best path, count matches
 */
static
getmat(lx, ly, firstgap, lastgap)
        int     lx, ly;                 /* "core" (minus endgaps) */
        int     firstgap, lastgap;      /* leading trailing overlap */
{
        int             nm, i0, i1, siz0, siz1;
        char            outx[32];
        double          pct;
        register        n0, n1;
        register char   *p0, *p1;
        /* get total matches, score
         */
        i0 = i1 = siz0 = siz1 = 0;
        p0 = seqx[0] + pp[1].spc;
        p1 = seqx[1] + pp[0].spc;
        n0 = pp[1].spc + 1;
        n1 = pp[0].spc + 1;
        nm = 0;
        while ( *p0 && *p1 ) {
                if (siz0) {
                        p1++;
                        n1++;
                        siz0--;
                }
                else if (siz1) {
                        p0++;
                        n0++;
                        siz1--;
                }
                else {
                        if (xbm[*p0-'A']&xbm[*p1-'A'])
                                nm++;
                        if (n0++ == pp[0].x[i0])
                                siz0 = pp[0].n[i0++];
                        if (n1++ == pp[1].x[i1])
                                siz1 = pp[1].n[i1++];
                        p0++;
                        p1++;
                }
        }

        /* pct homology:
         * if penalizing endgaps, base is the shorter seq
         * else, knock off overhangs and take shorter core
         */
        if (endgaps)
                lx = (len0 < len1)? len0 : len1;
        else
                lx = (lx < ly)? lx : ly;
        pct = 100.*(double)nm/(double)lx;
        fprintf(fx, "\n");
        fprintf(fx, "<%d match%s in an overlap of %d: %.2f percent similarity\n",
                nm, (nm == 1)? "" : "es", lx, pct);
```

表1(續)

```
        fprintf(fx, "<gaps in first sequence: %d", gapx);                    ...getmat
        if (gapx) {
                (void) sprintf(outx, " (%d %s%s)",
                        ngapx, (dna)? "base":"residue", (ngapx == 1)? "":"s");
                fprintf(fx,"%s", outx);
        fprintf(fx, ", gaps in second sequence: %d", gapy);
        if (gapy) {
                (void) sprintf(outx, " (%d %s%s)",
                        ngapy, (dna)? "base":"residue", (ngapy == 1)? "":"s");
                fprintf(fx,"%s", outx);
        }
        if (dna)
                fprintf(fx,
                "\n<score: %d (match = %d, mismatch = %d, gap penalty = %d + %d per base)\n",
                smax, DMAT, DMIS, DINS0, DINS1);
        else
                fprintf(fx,
                "\n<score: %d (Dayhoff PAM 250 matrix, gap penalty = %d + %d per residue)\n",
                smax, PINS0, PINS1);
        if (endgaps)
                fprintf(fx,
                "<endgaps penalized. left endgap: %d %s%s, right endgap: %d %s%s\n",
                firstgap, (dna)? "base" : "residue", (firstgap == 1)? "" : "s",
                lastgap, (dna)? "base" : "residue", (lastgap == 1)? "" : "s");
        else
                fprintf(fx, "<endgaps not penalized\n");
}
static          nm;             /* matches in core -- for checking */
static          lmax;           /* lengths of stripped file names */
static          ij[2];          /* jmp index for a path */
static          nc[2];          /* number at start of current line */
static          ni[2];          /* current elem number -- for gapping */
static          siz[2];
static char     *ps[2];         /* ptr to current element */
static char     *po[2];         /* ptr to next output char slot */
static char     out[2][P_LINE]; /* output line */
static char     star[P_LINE];   /* set by stars() */
/*
 * print alignment of described in struct path pp[]
 */
static
pr_align()                                                                   pr_align
{
        int             nn;     /* char count */
        int             more;
        register        i;

        for (i =  0, lmax = 0; i < 2; i++) {
                nn = stripname(namex[i]);
                if (nn > lmax)
                        lmax = nn;
                nc[i] = 1;
                ni[i] = 1;
                siz[i] = ij[i] = 0;
                ps[i] = seqx[i];
                                                po[i] = out[i];         }
```

表1(續)

...pr_align

```
        for (nn = nm = 0, more = 1; more; ) {
                for (i = more = 0; i < 2; i++) {
                        /*
                         * do we have more of this sequence?
                         */
                        if (!*ps[i])
                                continue;
                        more++;
                        if (pp[i].spc) {        /* leading space */
                                *po[i]++ = ' ';
                                pp[i].spc--;
                        }
                        else if (siz[i]) {      /* in a gap */
                                *po[i]++ = '-';
                                siz[i]--;
                        }
                        else {                  /* we're putting a seq element
                                                 */
                                *po[i] = *ps[i];
                                if (islower(*ps[i]))
                                        *ps[i] = toupper(*ps[i]);
                                po[i]++;
                                ps[i]++;
                                /*
                                 * are we at next gap for this seq?
                                 */
                                if (ni[i] == pp[i].x[ij[i]]) {
                                        /*
                                         * we need to merge all gaps
                                         * at this location
                                         */
                                        siz[i] = pp[i].n[ij[i]++];
                                        while (ni[i] == pp[i].x[ij[i]])
                                                siz[i] += pp[i].n[ij[i]++];
                                }
                                ni[i]++;
                        }
                }
                if (++nn == olen || !more && nn) {
                        dumpblock();
                        for (i = 0; i < 2; i++)
                                po[i] = out[i];
                        nn = 0;
                }
        }
}
/*
 * dump a block of lines, including numbers, stars: pr_align()
 */
static
dumpblock()
{
        register  i;
        for (i = 0; i < 2; i++)
                *po[i]-- = '\0';
```

dumpblock

表1(續)

...dumpblock

```
        (void) putc('\n', fx);
        for (i = 0; i < 2; i++) {
                if (*out[i] && (*out[i] != ' ' || *(po[i]) != ' ')) {
                        if (i == 0)
                                nums(i);
                        if (i == 0 && *out[1])
                                stars();
                        putline(i);
                        if (i == 0 && *out[1])
                                fprintf(fx, star);
                        if (i == 1)
                                nums(i);
                }
        }
}
/*
 * put out a number line: dumpblock()
 */
static
```

nums

```
nums(ix)
        int     ix;     /* index in out[] holding seq line */
{
        char            nline[P_LINE];
        register        i, j;
        register char   *pn, *px, *py;
        for (pn = nline, i = 0; i < lmax+P_SPC; i++, pn++)
                *pn = ' ';
        for (i = nc[ix], py = out[ix]; *py; py++, pn++) {
                if (*py == ' ' || *py == '-')
                        *pn = ' ';
                else {
                        if (i%10 == 0 || (i == 1 && nc[ix] != 1)) {
                                j = (i < 0)? -i : i;
                                for (px = pn; j; j /= 10, px--)
                                        *px = j%10 + '0';
                                if (i < 0)
                                        *px = '-';
                        }
                        else
                                *pn = ' ';
                        i++;
                }
        }
        *pn = '\0';
        nc[ix] = i;
        for (pn = nline; *pn; pn++)
                (void) putc(*pn, fx);
        (void) putc('\n', fx);
}
/*
 * put out a line (name, [num], seq, [num]): dumpblock()
 */
static
```

putline

```
putline(ix)
                                int     ix;                     {
```

表1(續)

...putline

```
        int             i;
        register char   *px;

        for (px = namex[ix], i = 0; *px && *px != ':'; px++, i++)
                (void) putc(*px, fx);
        for (; i < lmax+P_SPC; i++)
                (void) putc(' ', fx);

        /* these count from 1:
         * ni[] is current element (from 1)
         * nc[] is number at start of current line
         */
        for (px = out[ix]; *px; px++)
                (void) putc(*px&0x7F, fx);
        (void) putc('\n', fx);
}


/*
 * put a line of stars (seqs always in out[0], out[1]): dumpblock()
 */
static
stars()                                                                 stars
{
        int             i;
        register char   *p0, *p1, cx, *px;

        if (!*out[0] || (*out[0] == ' ' && *(po[0]) == ' ') ||
            !*out[1] || (*out[1] == ' ' && *(po[1]) == ' '))
                return;
        px = star;
        for (i = lmax+P_SPC; i; i--)
                *px++ = ' ';

        for (p0 = out[0], p1 = out[1]; *p0 && *p1; p0++, p1++) {
                if (isalpha(*p0) && isalpha(*p1)) {

                        if (xbm[*p0-'A']&xbm[*p1-'A']) {
                                cx = '*';
                                nm++;
                        }
                        else if (!dna && _day[*p0-'A'][*p1-'A'] > 0)
                                cx = ':';
                        else
                                cx = ' ';
                }
                else
                        cx = ' ';
                *px++ = cx;
        }
        *px++ = '\n';
        *px = '\0';
}
```

表1(續)

```
/*
 * strip path or prefix from pn, return len: pr_align()
 */
static
stripname(pn)                                                    stripname
        char    *pn;    /* file name (may be path) */
{
        register char   *px, *py;

        py = 0;
        for (px = pn; *px; px++)
                if (*px == '/')
                        py = px + 1;
        if (py)
                (void) strcpy(pn, py);
        return(strlen(pn));

}
```

表1(續)

```
/*
 * cleanup() -- cleanup any tmp file
 * getseq() -- read in seq, set dna, len, maxlen
 * g_calloc() -- calloc() with error checkin
 * readjmps() -- get the good jmps, from tmp file if necessary
 * writejmps() -- write a filled array of jmps to a tmp file: nw()
 */
#include "nw.h"
#include <sys/file.h>

char    *jname = "/tmp/homgXXXXXX";             /* tmp file for jmps */
FILE    *fj;
int     cleanup();                              /* cleanup tmp file */
long    lseek();
/*
 * remove any tmp file if we blow
 */
cleanup(i)                                                              cleanup
        int     i;
{
        if (fj)
                (void) unlink(jname);
        exit(i);
}
/*
 * read, return ptr to seq, set dna, len, maxlen
 * skip lines starting with ';', '<', or '>'
 * seq in upper or lower case
 */
char    *
getseq(file, len)                                                       getseq
        char    *file;  /* file name */
        int     *len;   /* seq len */
{
        char            line[1024], *pseq;
        register char   *px, *py;
        int             natgc, tlen;
        FILE            *fp;
        if ((fp = fopen(file,"r")) == 0) {
                fprintf(stderr,"%s: can't read %s\n", prog, file);
                exit(1);
        }
        tlen = natgc = 0;
        while (fgets(line, 1024, fp)) {
                if (*line == ';' || *line == '<' || *line == '>')
                        continue;
                for (px = line; *px != '\n'; px++)
                        if (isupper(*px) || islower(*px))
                                tlen++;
        }
        if ((pseq = malloc((unsigned)(tlen+6))) == 0) {
                fprintf(stderr,"%s: malloc() failed to get %d bytes for %s\n", prog, tlen+6, file);
                exit(1);
        }
        pseq[0] = pseq[1] = pseq[2] = pseq[3] = '\0';
```

表1(續)

...getseq

```
        py = pseq + 4;
        *len = tlen;
        rewind(fp);
        while (fgets(line, 1024, fp)) {
                if (*line == ';' || *line == '<' || *line == '>')
                        continue;
                for (px = line; *px != '\n'; px++) {
                        if (isupper(*px))
                                *py++ = *px;
                        else if (islower(*px))
                                *py++ = toupper(*px);
                        if (index("ATGCU",*(py-1)))
                                natgc++;
                }
        }
        *py++ = '\0';
        *py = '\0';
        (void) fclose(fp);
        dna = natgc > (tlen/3);
        return(pseq+4);
}
char    *
```

g_calloc

```
g_calloc(msg, nx, sz)
        char    *msg;           /* program, calling routine */
        int     nx, sz;         /* number and size of elements */
{
        char            *px, *calloc();
        if ((px = calloc((unsigned)nx, (unsigned)sz)) == 0) {
                if (*msg) {
                        fprintf(stderr, "%s: g_calloc() failed %s (n=%d, sz=%d)\n", prog, msg, nx, sz);
                        exit(1);
                }
        }
        return(px);
}

/*
 * get final jmps from dx[] or tmp file, set pp[], reset dmax: main()
 */
```

readjmps

```
readjmps()
{
        int             fd = -1;
        int             siz, i0, i1;
        register        i, j, xx;
        if (fj) {
                (void) fclose(fj);
                if ((fd = open(jname, O_RDONLY, 0)) < 0) {
                        fprintf(stderr, "%s: can't open() %s\n", prog, jname);
                        cleanup(1);
                }
        }
        for (i = i0 = i1 = 0, dmax0 = dmax, xx = len0; ; i++) {
                while (1) {
                        for (j = dx[dmax].ijmp; j >= 0 && dx[dmax].jp.x[j] >= xx; j--)
                                ;
```

表1(續)

...readjmps

```
                if (j < 0 && dx[dmax].offset && fj) {
                        (void) lseek(fd, dx[dmax].offset, 0);
                        (void) read(fd, (char *)&dx[dmax].jp, sizeof(struct jmp));
                        (void) read(fd, (char *)&dx[dmax].offset, sizeof(dx[dmax].offset));
                        dx[dmax].ijmp = MAXJMP-1;                                    }
                else
                        break;                  }
        if (i >= JMPS) {
                fprintf(stderr, "%s: too many gaps in alignment\n", prog);
                cleanup(1);
        }
        if (j >= 0) {
                siz = dx[dmax].jp.n[j];
                xx = dx[dmax].jp.x[j];
                dmax += siz;
                if (siz < 0) {                  /* gap in second seq */
                        pp[1].n[i1] = -siz;
                        xx += siz;
                        /* id = xx - yy + len1 - 1                                   */
                        pp[1].x[i1] = xx - dmax + len1 - 1;
                        gapy++;
                        ngapy -= siz;
/* ignore MAXGAP when doing endgaps */
                        siz = (-siz < MAXGAP || endgaps)? -siz : MAXGAP;
                        i1++;
                }
                else if (siz > 0) {     /* gap in first seq */
                        pp[0].n[i0] = siz;
                        pp[0].x[i0] = xx;
                        gapx++;
                        ngapx += siz;
/* ignore MAXGAP when doing endgaps */
                        siz = (siz < MAXGAP || endgaps)? siz : MAXGAP;
                        i0++;
                }
        }
        else
                break;
    }
    /* reverse the order of jmps    */
    for (j = 0, i0--; j < i0; j++, i0--) {
        i = pp[0].n[j]; pp[0].n[j] = pp[0].n[i0]; pp[0].n[i0] = i;
        i = pp[0].x[j]; pp[0].x[j] = pp[0].x[i0]; pp[0].x[i0] = i;
    }
    for (j = 0, i1--; j < i1; j++, i1--) {
        i = pp[1].n[j]; pp[1].n[j] = pp[1].n[i1]; pp[1].n[i1] = i;
        i = pp[1].x[j]; pp[1].x[j] = pp[1].x[i1]; pp[1].x[i1] = i;
    }
    if (fd >= 0)
        (void) close(fd);
    if (fj) {
        (void) unlink(jname);
        fj = 0;
        offset = 0;
                                        }                                   }
```

表1(續)

```
/*
 * write a filled jmp struct offset of the prev one (if any): nw()
 */
writejmps(ix)                                                          writejmps
        int     ix;
{
        char    *mktemp();

        if (!fj) {
                if (mktemp(jname) < 0) {
                        fprintf(stderr, "%s: can't mktemp() %s\n", prog, jname);
                        cleanup(1);
                }
                if ((fj = fopen(jname, "w")) == 0) {
                        fprintf(stderr, "%s: can't write %s\n", prog, jname);
                        exit(1);
                }
        }
        (void) fwrite((char *)&dx[ix].jp, sizeof(struct jmp), 1, fj);
        (void) fwrite((char *)&dx[ix].offset, sizeof(dx[ix].offset), 1, fj);
}
```

III.本發明之組合物及方法

本發明提供抗-CD79b抗體或其功能片段，及其用於治療造血腫瘤之方法。

在一態樣中，本發明提供一種抗體，其(較佳特異性地)結合至上文或下文所述之多肽中之任一者。視情況，該抗體為單株抗體、抗體片段(包括Fab、Fab'、$F(ab')_2$及Fv片段)、雙功能抗體、單域抗體、嵌合抗體、人類化抗體、單鏈抗體或競爭性抑制抗-CD79b多肽抗體與其各別抗原性抗原決定基之結合之抗體。本發明之抗體可視情況與生長抑制劑或細胞毒性劑共軛，該生長抑制劑或細胞毒性劑諸如毒素，包括(例如)奧瑞他汀、美登素類、海兔毒素衍生物或卡奇黴素、抗生素、放射性同位素、溶核酶或其類似物。本發明之抗體可視情況於CHO細胞或細菌細胞中產生且較佳引起其所結合之細胞死亡。出於偵測目的，本發明之抗體可以可偵測方式標記、連接於固體支撐物或其類似情況。

在一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中該抗

體對CD79b之單價親和力(例如呈Fab片段之抗體對CD79b之親和力)大體上與鼠類抗體(例如呈Fab片段之鼠類抗體對CD79b之親和力)或嵌合抗體(例如呈Fab片段之嵌合抗體對CD79b之親和力)之單價親和力相同，該鼠類抗體或嵌合抗體包含如圖7A-B(SEQ ID NO: 10)及圖8A-B(SEQ ID NO: 14)中所示之輕鏈及重鏈可變域序列、由該輕鏈及重鏈可變域序列組成或基本上由該輕鏈及重鏈可變域序列組成。

在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中該抗體對CD79b之單價親和力(例如呈Fab片段之抗體對CD79b之親和力)比鼠類抗體(例如呈Fab片段之鼠類抗體對CD79b之親和力)或嵌合抗體(例如呈Fab片段之嵌合抗體對CD79b之親和力)之單價親和力低，例如低至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45、50、55或60倍，該鼠類抗體或嵌合抗體包含如圖7A-B(SEQ ID NO: 10)及圖8A-B(SEQ ID NO: 14)中所示之輕鏈及重鏈可變域序列、由該輕鏈及重鏈可變域序列組成或基本上由該輕鏈及重鏈可變域序列組成。

在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中該抗體對CD79b之單價親和力(例如呈Fab片段之抗體對CD79b之親和力)比鼠類抗體(例如呈Fab片段之鼠類抗體對CD79b之親和力)或嵌合抗體(例如呈Fab片段之嵌合抗體對CD79b之親和力)之單價親和力大，例如大至少1、2、3、4、5、6、7、8、9或10倍，該鼠類抗體或嵌合抗體包含如圖7A-B(SEQ ID NO: 10)及圖8A-B(SEQ ID NO: 14)中所示之輕鏈及重鏈可變域序列、由該輕鏈及重鏈可變域序列組成或基本上由該輕鏈及重鏈可變域序列組成。

在一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)大體上與二價形式之鼠類抗體(例如呈IgG之鼠類抗體對CD79b之親和

力)或嵌合抗體(例如呈Fab片段之嵌合抗體對CD79b之親和力)之親和力相同，該鼠類抗體或嵌合抗體包含如圖7A-B(SEQ ID NO: 10)及圖8A-B(SEQ ID NO: 14)中所示之輕鏈及重鏈可變域序列、由該輕鏈及重鏈可變域序列組成或基本上由該輕鏈及重鏈可變域序列組成。

在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)比二價形式之鼠類抗體(例如呈IgG之鼠類抗體對CD79b之親和力)或嵌合抗體(例如呈IgG片段之嵌合抗體對CD79b之親和力)之親和力低，例如低至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45、50、55或60倍，該鼠類抗體或嵌合抗體包含如圖7A-B(SEQ ID NO: 10)及圖8A-B(SEQ ID NO: 14)中所示之輕鏈及重鏈可變域序列、由該輕鏈及重鏈可變域序列組成或基本上由該輕鏈及重鏈可變域序列組成。

在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)比二價形式之鼠類抗體(例如呈IgG之鼠類抗體對CD79b之親和力)或嵌合抗體(例如呈IgG片段之嵌合抗體對CD79b之親和力)之親和力大，例如大至少1、2、3、4、5、6、7、8、9或10倍，該鼠類抗體或嵌合抗體包含如圖7A-B(SEQ ID NO: 10)及圖8A-B(SEQ ID NO: 14)中所示之輕鏈及重鏈可變域序列、由該輕鏈及重鏈可變域序列組成或基本上由該輕鏈及重鏈可變域序列組成。

在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)為0.4 nM。在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和性)為0.4 nM +/-0.04。

在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)為0.3 nM或更好。在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)為0.32 nM或更好。在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)為0.36 nM或更好。在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)為0.4 nM或更好。在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)為0.44 nM或更好。在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)為0.48 nM或更好。在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)為0.5 nM或更好。在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)介於0.3 nM與0.5 nM之間。在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)介於0.32 nM與0.48 nM之間。在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)介於0.36 nM與0.44 nM之間。

在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)為0.2 nM。在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗

體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)為0.2 nM +/-0.02。

在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)為0.1 nM或更好。在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)為0.12 nM或更好。在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)為0.14 nM或更好。在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)為0.16 nM或更好。在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)為0.18 nM或更好。在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)為0.2 nM或更好。在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)為0.22 nM或更好。在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)為0.24 nM或更好。在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)為0.26 nM或更好。在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)為0.28 nM或更好。在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和

力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)為0.30 nM或更好。在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)介於0.1 nM與0.3 nM之間。在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)介於0.12 nM與0.28 nM之間。在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)介於0.14 nM與0.26 nM之間。在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)介於0.16 nM與0.24 nM之間。在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)介於0.18 nM與0.22 nM之間。

在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)為0.5 nM。在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)為0.5 nM +/-0.1。

在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)為0.4 nM或更好。在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)為0.5 nM或更好。在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)為0.6 nM或更好。在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體

對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)為0.7 nM或更好。在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)介於0.3 nM與0.7 nM之間。在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)介於0.4 nM與0.6 nM之間。在另一態樣中，本發明提供一種人類化抗-CD79b抗體，其中二價形式之該抗體對CD79b之親和力(例如呈IgG之抗體對CD79b之親和力)介於0.5 nM與0.55 nM之間。

在一態樣中，鼠類抗體對CD79b之單價親和力大體上與包含SEQ ID NO: 10(圖7A-B)及SEQ ID NO: 14(圖8A-B)之可變域序列之Fab片段的結合親和力相同。在另一態樣中，鼠類抗體對CD79b之單價親和力大體上與包含由1993年7月20日以HB11413寄存於ATCC之融合瘤產生之抗體的可變域序列之Fab片段或包含來自由1993年7月20日以HB11413寄存於ATCC之融合瘤產生之抗體的可變域之嵌合抗體之結合親和力相同。

如此項技術中所認可，配位體與其受體之結合親和力可使用多種檢定中之任一者來測定，且以多種數值來表示。相應地，在一實施例中，結合親和力係以Kd值表示且反映固有結合親和力(例如，親和力效應減至最小)。一般且較佳地，無論在無細胞抑或細胞相關之背景中，結合親和力皆係在活體外量測。如本文中更詳細描述，結合親和力之倍數差異可以人類化抗體(例如呈Fab形式)之單價結合親和力值與參考/對照抗體(例如呈Fab形式)(例如具有供體高變區序列之鼠類抗體)之單價結合親和力值之比率來量化，其中該等結合親和力值係於類似檢定條件下測定。因此，在一實施例中，結合親和力之倍數差異係以呈Fab形式之人類化抗體與該參考/對照Fab抗體之Kd值之比率

來求出。舉例而言，在一實施例中，若本發明之抗體(A)具有比參考抗體(M)之親和力"低3倍"之親和力，則若A之Kd值為3×，則M之Kd值將為1×，且A之Kd與M之Kd之比率將為3:1。相反，在一實施例中，若本發明之抗體(C)具有比參考抗體(R)之親和力"大3倍"之親和力，則若C之Kd值為1×，則R之Kd值將為3×，且C之Kd與R之Kd之比率將為1:3。此項技術中已知之許多檢定中之任一者(包括本文所述之彼等者)可用於獲得結合親和力量測，包括例如Biacore、放射免疫檢定(RIA)及ELISA。

在一態樣中，提供一種結合CD79b之抗體，其中該抗體包含：

(a)至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自由下列者組成之群的HVR：

(i)包含序列A1-A15之HVR-L1，其中A1-A15為KASQSVDYDGDSFLN(SEQ ID NO: 131)；

(ii)包含序列B1-B7之HVR-L2，其中B1-B7為AASNLES (SEQ ID NO: 132)；

(iii)包含序列C1-C9之HVR-L3，其中C1-C9為QQSNEDPLT(SEQ ID NO: 133)；

(iv)包含序列D1-D10之HVR-H1，其中D1-D10為GYTFSSYWIE(SEQ ID NO: 134)；

(v)包含序列E1-E18之HVR-H2，其中E1-E18為GEILPGGGDTNYNEIFKG(SEQ ID NO: 135)；及

(vi)包含序列F1-F10之HVR-H3，其中F1-F10為TRRVPVYFDY(SEQ ID NO: 136)。

在一實施例中，本發明之抗體之HVR-L1包含SEQ ID NO: 131之序列。在一實施例中，本發明之抗體之HVR-L2包含SEQ ID NO: 132之序列。在一實施例中，本發明之抗體之HVR-L3包含SEQ ID NO:

133之序列。在一實施例中，本發明之抗體之HVR-H1包含SEQ ID NO: 134之序列。在一實施例中，本發明之抗體之HVR-H2包含SEQ ID NO: 135之序列。在一實施例中，本發明之抗體之HVR-H3包含SEQ ID NO: 136之序列。在一實施例中，包含此等序列(呈如本文所述之組合形式)之本發明之抗體為人類化或人類抗體。

在一態樣中，提供一種結合CD79b之抗體，其中該抗體包含：

(a)至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自由下列者組成之群的HVR：

(i)包含序列A1-A15之HVR-L1，其中A1-A15為KASQSVDYDGDSFLN(SEQ ID NO: 131)；

(ii)包含序列B1-B7之HVR-L2，其中B1-B7為AASNLES(SEQ ID NO: 132)；

(iii)包含序列C1-C9之HVR-L3，其中C1-C9為QQSNEDPLT(SEQ ID NO: 133)；

(iv)包含序列D1-D10之HVR-H1，其中D1-D10為GYTFSSYWIE(SEQ ID NO: 134)；

(v)包含序列E1-E18之HVR-H2，其中E1-E18為GEILPGGGDTNYNEIFKG(SEQ ID NO: 135)；及

(vi)包含序列F1-F10之HVR-H3，其中F1-F10為TRRVPVYFDY(SEQ ID NO: 136)；及

(b)至少一個變異HVR，其中該變異HVR序列包含對SEQ ID NO: 131、132、133、134、135或136中所示之序列之至少一個殘基的修飾。在一實施例中，本發明之抗體之HVR-L1包含SEQ ID NO: 131之序列。在一實施例中，本發明之抗體之HVR-L2包含SEQ ID NO: 132之序列。在一實施例中，本發明之抗體之HVR-L3包含SEQ ID NO: 133之序列。在一實施例中，本發明之抗體之HVR-H1包含SEQ ID

NO: 134之序列。在一實施例中，本發明之抗體之HVR-H2包含SEQ ID NO: 135之序列。在一實施例中，本發明之抗體之HVR-H3包含SEQ ID NO: 136之序列。在一實施例中，包含此等序列(呈如本文所述之組合形式)之本發明之抗體為人類化或人類抗體。

在一態樣中，本發明提供一種包含一個、兩個、三個、四個、五個或六個HVR之抗體，其中HVR各自包含選自由SEQ ID NO: 131、132、133、134、135及136組成之群的序列、由該序列組成或基本上由該序列組成，且其中SEQ ID NO: 131對應於HVR-L1，SEQ ID NO: 132對應於HVR-L2，SEQ ID NO: 133對應於HVR-L3，SEQ ID NO: 134對應於HVR-H1，SEQ ID NO: 135對應於HVR-H2，且SEQ ID NO: 136對應於HVR-H3。在一實施例中，本發明之抗體包含HVR-L1、HVR-L2、HVR-L3、HVR-H1、HVR-H2及HVR-H3，其中各自依序包含SEQ ID NO: 131、132、133、134、135及136。

本發明之抗體中之變異HVR可具有對HVR內之一或多個殘基之修飾。在一實施例中，HVR-L1變異體包含以下位置處之一個取代：A4(K)、A9(E或S)及A10(A或S)。在一實施例中，HVR-L2變異體包含以下位置之任一者或組合處的1-5(1、2、3、4或5)個取代：B2(S或G)、B3(R或G)、B4(K、R、Y、I、H或Q)、B5(R)、B6(G、K、A、R、S或L)及B7(R、N、T或G)。在一實施例中，HVR-L3變異體包含以下位置之任一者或組合處的1-4(1、2、3或4)個取代：C1(N或D)、C2(N或P)、C3(D或R)、C5(S、K、A、Q、D、L或G)、C6(A、E或N)、C7(A)、C8(R)及C9(N)。在一實施例中，HVR-H1變異體包含以下位置之任一者或組合處的1-7(1、2、3、4、5、6或7)個取代：D1(P)、D2(F)、D3(P、S、Y、G或N)、D4(L或V)、D5(T、R、N、K、C、G或P)、D6(R、T、K或G)、D8(F)、D9(V或L)及D10(S、Q、N或D)。在一實施例中，HVR-H3變異體包含以下位置之任一者或組合

處的1-3(1、2或3)個取代：F4(R或I)、F6(I或F)、F7(K、C、R、V或F)、F8(L)及F9(S)。每一位置後之括號中之字母指示例示性取代(亦即，置換)胺基酸；如將為熟習此項技術者所明瞭，其他胺基酸在本文所述之情況下作為取代胺基酸的適合性通常可使用此項技術中已知及/或本文所述之技術來評估。在一實施例中，變異HVR-L1中之A9為E。在一實施例中，變異HVR-H3中之F6為I。在一實施例中，變異HVR-H3中之F7為R。在一實施例中，變異HVR-H3中之F8為L。在一實施例中，本發明之抗體包含其中F6為I、F7為R且F8為L之變異HVR-H3。在一實施例中，本發明之抗體包含其中A9為E之變異HVR-L1及其中F6為I、F7為R且F8為L之變異HVR-H3。在一實施例中，變異HVR-L1中之A9為S。在一實施例中，本發明之抗體包含其中A9為S之變異HVR-L1及其中F6為I、F7為R且F8為L之變異HVR-H3。

在一實施例中，本發明之抗體包含其中A4為K之變異HVR-L1。在一些實施例中，該變異HVR-L1包含HVR-L2、HVR-L3、HVR-H1、HVR-H2及HVR-H3，其中各自依序包含SEQ ID NO: 132、133、134、135及136中所示之序列。在一些實施例中，該變異HVR-L1抗體進一步包含其中A9為E或S且/或A10為A或S之HVR-L1變異體。在一些實施例中，該變異HVR-L1抗體進一步包含其中C6為E或N且/或C7為A之HVR-L3變異體。在一些實施例中，此等抗體進一步包含人類亞群III重鏈構架一致序列。在此等抗體之一實施例中，該構架一致序列包含位置71、73及/或78處之取代。在此等抗體之一些實施例中，位置71為A，73為T且/或78為A。在此等抗體之一實施例中，此等抗體進一步包含人類κI輕鏈構架一致序列。在此等抗體之一些實施例中，構架人類κI輕鏈構架一致序列包含位置4及/或47處之取代。在此等抗體之一些實施例中，(人類κI輕鏈構架一致序列之)位置4為L且/或47為F。在此等抗體之一實施例中，人類亞群III重鏈構架一致序列包含位置

48、67、69、71、73、75、78及/或80處之取代。在此等抗體之一些實施例中，(人類亞群III重鏈構架一致序列之)位置48為I，67為A，69為F，71為A，73為T，75為S，78為A且/或80為M。在此等抗體之一些實施例中，此等抗體進一步包含人類κI輕鏈構架一致序列。在此等抗體之一實施例中，構架人類κI輕鏈構架一致序列包含位置4及/或47處之取代。在此等抗體之一些實施例中，(人類κI輕鏈構架一致序列之)位置4為L且/或47為F。

在一個實施例中，本發明之抗體包含B3為R、B4為K、B6為G及B7為R之變異HVR-L2。在一個實施例中，本發明之抗體包含B3為R、B4為Y、B6為K及B7為R之變異HVR-L2。在一個實施例中，本發明之抗體包含B3為R、B4為K及B6為G之變異HVR-L2。在一些實施例中，該變異HVR-L2抗體進一步包含HVR-L1、HVR-L3、HVR- H1、HVR-H2及HVR-H3，其中各依序包含SEQ ID NO: 131、133、134、135及136中所示之序列。在一些實施例中，該變異HVR-L2抗體進一步包含A9為E或S及/或A10為A或S之HVR-L1變異體。在一些實施例中，該變異HVR- L2抗體進一步包含C6為E或N及/或C7為A之HVR-L3變異體。在一些實施例中，此等抗體進一步包含人類亞群III重鏈構架一致序列。在此等抗體之一個實施例中，該構架一致序列包含位置71、73及/或78之取代。在此等抗體之一些實施例中，位置71為A，73為T及/或78為A。在此等抗體之一個實施例中，此等抗體進一步包含人類κI輕鏈構架一致序列。在此等抗體之一些實施例中，構架人類κI輕鏈構架一致序列包含位置4及/或47之取代。在此等抗體之一些實施例中，(人類κI輕鏈構架一致序列之)位置4為L及/或47為F。在此等抗體之一個實施例中，人類亞群III重鏈構架一致序列包含位置48、67、69、71、73、75、78及/或80之取代。在此等抗體之一些實施例中，(人類亞群III重鏈構架一致序列之)位置48為I，67為A，69為F，71為A，73

為T，75為S，78為A及/或80為M。在此等抗體之一些實施例中，此等抗體進一步包含人類κI輕鏈構架一致序列。在此等抗體之一個實施例中，構架人類κI輕鏈構架一致序列包含位置4及/或47之取代。在此等抗體之一些實施例中，(人類κI輕鏈構架一致序列之)位置4為L及/或47為F。

在一個實施例中，本發明之抗體包含C5為K之變異HVR- L3。在一個實施例中，本發明之抗體包含C5為S之變異HVR-L3。在一些實施例中，該變異HVR-L3抗體進一步包含HVR-L1、HVR-L2、HVR-H1、HVR-H2及HVR-H3，其中各依序包含SEQ ID NO: 131、132、134、135及136中所示之序列。在一些實施例中，該變異HVR-L3抗體進一步包含A9為E或S及/或A10為A或S之HVR-L1變異體。在一些實施例中，該變異HVR-L3抗體進一步包含C6為E或N及/或C7為A之HVR-L3變異體。在一些實施例中，此等抗體進一步包含人類亞群III重鏈構架一致序列。在此等抗體之一個實施例中，該構架一致序列包含位置71、73及/或78之取代。在此等抗體之一些實施例中，位置71為A，73為T且/或78為A。在此等抗體之一實施例中，此等抗體進一步包含人類κI輕鏈構架一致序列。在此等抗體之一些實施例中，構架人類κI輕鏈構架一致序列包含位置4及/或47處之取代。在此等抗體之一些實施例中，(人類κI輕鏈構架一致序列之)位置4為L且/或47為F。在此等抗體之一實施例中，人類亞群III重鏈構架一致序列包含位置48、67、69、71、73、75、78及/或80處之取代。在此等抗體之一些實施例中，(人類亞群III重鏈構架一致序列之)位置48為I，67為A，69為F，71為A，73為T，75為S，78為A且/或80為M。在此等抗體之一些實施例中，此等抗體進一步包含人類κI輕鏈構架一致序列。在此等抗體之一實施例中，構架人類κI輕鏈構架一致序列包含位置4及/或47處之取代。在此等抗體之一些實施例中，(人類κI輕鏈構架一致序列之)位置4

為L且/或47為F。

在一實施例中，本發明之抗體包含其中D3為P、D5為T、D6為R且D10為N之變異HVR-H1。在一實施例中，本發明之抗體包含其中D3為P、D5為T、D6為R且D10為N之變異HVR-H1。在一些實施例中，該變異HVR-H1抗體進一步包含HVR-L1、HVR-L2、HVR-L3、HVR-H2及HVR-H3，其中各自依序包含SEQ ID NO: 131、132、133、135及136中所示之序列。在一些實施例中，該變異HVR-H1抗體進一步包含其中A9為E或S且/或A10為A或S之HVR-L1變異體。在一些實施例中，該變異HVR-H1抗體進一步包含其中C6為E或N且/或C7為A之HVR-L3變異體。在一些實施例中，此等抗體進一步包含人類亞群III重鏈構架一致序列。在此等抗體之一實施例中，該構架一致序列包含位置71、73及/或78處之取代。在此等抗體之一些實施例中，位置71為A，73為T且/或78為A。在此等抗體之一實施例中，此等抗體進一步包含人類κI輕鏈構架一致序列。在此等抗體之一些實施例中，構架人類κI輕鏈構架一致序列包含位置4及/或47處之取代。在此等抗體之一些實施例中，(人類κI輕鏈構架一致序列之)位置4為L且/或47為F。在此等抗體之一實施例中，人類亞群III重鏈構架一致序列包含位置48、67、69、71、73、75、78及/或80處之取代。在此等抗體之一些實施例中，(人類亞群III重鏈構架一致序列之)位置48為I，67為A，69為F，71為A，73為T，75為S，78為A且/或80為M。在此等抗體之一些實施例中，此等抗體進一步包含人類κI輕鏈構架一致序列。在此等抗體之一實施例中，構架人類κI輕鏈構架一致序列包含位置4及/或47處之取代。在此等抗體之一些實施例中，(人類κI輕鏈構架一致序列之)位置4為L且/或47為F。

在一實施例中，本發明之抗體包含其中F6為I且F8為L之變異HVR-H3。在一實施例中，本發明之抗體包含其中F6為I、F7為R且F8

為L之變異HVR-H3。在一些實施例中，該變異HVR-H3抗體進一步包含HVR-L1、HVR-L2、HVR-L3、HVR-H1及HVR-H2，其中各自依序包含SEQ ID NO: 131、132、133、134及135中所示之序列。在一些實施例中，該變異HVR-H3抗體進一步包含其中A9為E或S且/或A10為A或S之HVR-L1變異體。在一些實施例中，該變異HVR-H3抗體進一步包含其中C6為E或N且/或C7為A之HVR-L3變異體。在一些實施例中，此等抗體進一步包含人類亞群III重鏈構架一致序列。在此等抗體之一實施例中，人類亞群III重鏈構架一致序列包含位置71、73及/或78處之取代。在此等抗體之一些實施例中，(人類亞群III重鏈構架一致序列之)位置71為A，73為T且/或78為A。在此等抗體之一實施例中，人類亞群III重鏈構架一致序列包含位置48、67、69、71、73及/或78處之取代。在此等抗體之一些實施例中，(人類亞群III重鏈構架一致序列之)位置48為I，67為A，69為F，71為A，73為T且/或78為A。在此等抗體之一實施例中，此等抗體進一步包含人類κI輕鏈構架一致序列。在此等抗體之一些實施例中，構架人類κI輕鏈構架一致序列包含位置4及/或47處之取代。在此等抗體之一些實施例中，(人類κI輕鏈構架一致序列之)位置4為L且/或47為F。在此等抗體之一實施例中，人類亞群III重鏈構架一致序列包含位置48、67、69、71、73、75、78及/或80處之取代。在此等抗體之一些實施例中，(人類亞群III重鏈構架一致序列之)位置48為I，67為A，69為F，71為A，73為T，75為S，78為A且/或80為M。在此等抗體之一些實施例中，此等抗體進一步包含人類κI輕鏈構架一致序列。在此等抗體之一實施例中，構架人類κI輕鏈構架一致序列包含位置4及/或47處之取代。在此等抗體之一些實施例中，(人類κI輕鏈構架一致序列之)位置4為L且/或47為F。

在一態樣中，本發明提供一種包含圖9(SEQ ID NO: 17-21)及/或圖10(SEQ ID NO: 22-106)中所示之HVR序列中之一個、兩個、三個、

四個、五個或全部的抗體。

用於宿主個體之治療劑較佳在該個體體內幾乎不引起針對該藥劑之免疫原性反應。在一實施例中，本發明提供此類藥劑。舉例而言，在一實施例中，本發明提供一種在宿主個體體內以與包含SEQ ID NO: 10及14之序列之抗體相比大體上降低的水平引起及/或預期引起人類抗-小鼠抗體反應(HAMA)之人類化抗體。在另一實例中，本發明提供一種能引起且/或預期能引起最小人類抗-小鼠抗體反應(HAMA)或不引起人類抗-小鼠抗體反應(HAMA)之人類化抗體。在一實例中，本發明之抗體引起臨床上可接受之水平或低於臨床上可接受之水平的抗-小鼠抗體反應。

本發明之人類化抗體可於其重鏈及/或輕鏈可變域中包含一或多個人類及/或人類一致非高變區(例如構架)序列。在一些實施例中，一或多個其他修飾存在於該等人類及/或人類一致非高變區序列中。在一實施例中，本發明之抗體之重鏈可變域包含人類一致構架序列，其在一實施例中為亞群III一致構架序列。在一實施例中，本發明之抗體包含於至少一個胺基酸位置處經修飾之變異亞群III一致構架序列。舉例而言，在一實施例中，變異亞群III一致構架序列可包含位置71、73及/或78之一或多者處之取代。在一實施例中，該取代為呈任何組合形式之R71A、N73T及/或L78A。舉例而言，在一實施例中，變異亞群III重鏈構架一致序列包含位置48、67、69、71、73及/或78處之取代。在一實施例中，該取代為V48I、F67A、I69F、R71A、N73T及/或L78A。舉例而言，在一實施例中，變異亞群III重鏈構架一致序列包含位置48、67、69、71、73、75、78及/或80處之取代。在一實施例中，該取代為V48I、F67A、I69F、R71A、N73T、K75S、L78A及/或L80M。在一實施例中，本發明之抗體之輕鏈可變域包含人類一致構架序列，其在一實施例中為κI一致構架序列。在一實施例中，本發

明之抗體包含於至少一個胺基酸位置處經修飾之變異κI一致構架序列。舉例而言，在一實施例中，變異κI一致構架序列可包含位置4處之取代。在一實施例中，該取代為M4L。舉例而言，在一實施例中，變異κI一致構架序列可包含位置4及/或47處之取代。在一實施例中，該取代為M4L及/或L47F。

如此項技術中所知，且如下文中更詳細描述，界定抗體之高變區之胺基酸位置/邊界可視此項技術中已知(如下文所述)之情況及各種定義而變化。可變域內之一些位置可視作混雜高變位置，此係因為根據一組標準可認為此等位置在高變區內，而根據一組不同標準可認為其在高變區外。此等位置中之一或多者亦可見於延伸高變區中(如下文進一步定義)。本發明提供包含此等混雜高變位置處之修飾之抗體。在一實施例中，此等高變位置包括重鏈可變域中之一或多個位置26-30、33-35B、47-49、57-65、93、94及101-102。在一實施例中，此等混雜高變位置包括輕鏈可變域中之位置24-29、35-36、46-49、56及97中之一或多者。在一實施例中，本發明之抗體包含於一或多個混雜高變位置處經修飾之人類變異人類亞群一致構架序列。

在一態樣中，本發明之抗體包含含有於位置26-30、33-35、48-49、58、60-63、93及101中之一或多者處經修飾之變異人類亞群III一致構架序列的重鏈可變域。在一實施例中，該抗體包含G26P取代。在一實施例中，抗體包含F27Y取代。在一實施例中，抗體包含T28P、S、Y、G或N取代。在一實施例中，抗體包含F29L或F29V取代。在一實施例中，抗體包含S30T、R、N、K、C、G或P取代。在一實施例中，抗體包含A33W或A33F取代。在一實施例中，抗體包含M34I、V或L取代，在一實施例中為S35E、Q、N或D。在一實施例中，抗體包含V48I取代。在一實施例中，抗體包含S49G取代。在一實施例中，抗體包含Y58N取代。在一實施例中，抗體包含A60N取

代。在一實施例中，抗體包含D61E取代。在一實施例中，抗體包含S62I取代。在一實施例中，抗體包含V63F取代。在一實施例中，抗體包含A93T取代。在一實施例中，抗體包含D101S取代。

在一態樣中，本發明之抗體包含含有於位置24、27-29、56及97中之一或多者處經修飾之變異人類κ亞群I一致構架序列的輕鏈可變域。在一實施例中，該抗體包含R24K取代。在一實施例中，抗體包含Q27K取代。在一實施例中，抗體包含S28D或E取代。在一實施例中，抗體包含I29G、A或S取代。在一實施例中，抗體包含S56R、N、T或G取代。在一實施例中，抗體包含T97N取代。

在一態樣中，本發明之抗體包含含有於位置26-30、33-35、48-49、58、60-63、93及101中之1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16個或全部位置處經修飾之變異人類亞群III一致構架序列的重鏈可變域。在一實施例中，修飾係選自由下列者組成之群：G26P、F27Y、T28P(S、Y、G或N)、F29L(V)、S30T(R、N、K、C、G或P)、A33W(F)、M34I(V或L)、S35E(Q、N或D)、V48I、S49G、Y58N、A60N、D61E、S62I、V63F、A93T及D101S。在本發明之一些實施例中，本發明之抗體包含於位置48、67、69、71、73、75、78及/或80處經修飾之變異亞群III一致構架序列。在一實施例中，該取代為V48I、F67A、I69F、R71A、N73T、K75S、L78A及/或L80M。

在一態樣中，本發明之抗體包含含有於位置24、27-29、56及97中之1、2、3、4、5個或全部位置處經修飾之變異人類κ亞群I一致構架序列的輕鏈可變域。在一實施例中，修飾係選自由R24K、Q27K、S28D(E)、I29G(A或S)、S56R(N、T或G)及T97N組成之群。在本發明之一些實施例中，本發明之抗體包含於位置4及/或47處經修飾之變異κI一致構架序列。在一實施例中，該取代為M4L及/或L47F。

本發明之抗體可包含任何合適之人類或人類一致輕鏈構架序列，其限制條件為抗體展現所需生物學特性(例如所需結合親和力)。在一實施例中，本發明之抗體包含人類κ輕鏈之構架序列之至少一部分(或全部)。在一實施例中，本發明之抗體包含人類κ亞群I構架一致序列之至少一部分(或全部)。

在一態樣中，本發明之抗體包含含有SEQ ID NO: 9(圖7A-B)及/或13(圖8A-B)中所示之構架序列之重鏈及/或輕鏈可變域。

在一態樣中，本發明之抗體為與細胞毒性劑共軛之人類化抗-CD79b抗體。在一態樣中，該與細胞毒性劑共軛之人類化抗-CD79b抗體抑制異種移植物中之腫瘤進展。

在一態樣中，人類化抗體與嵌合抗體皆為單價抗體。在一實施例中，人類化抗體與嵌合抗體皆包含連接於Fc區之單一Fab區。在一實施例中，參考嵌合抗體包含連接於人類Fc區之圖7A-B(SEQ ID NO: 10)及圖8A-B(SEQ ID NO: 14)中所示之可變域序列。在一實施例中，該人類Fc區為IgG(例如IgG1、2、3或4)之Fc區。

在一態樣中，本發明提供一種抗體，其包含含有圖15中所示之HVR1-HC、HVR2-HC及/或HVR3-HC序列(SEQ ID NO: 164-166)之重鏈可變域。在一實施例中，該可變域包含圖15中所示之FR1-HC、FR2-HC、FR3-HC及/或FR4-HC序列(SEQ ID NO: 160-163)。在一實施例中，該抗體包含圖15中所示之CH1及/或Fc序列(SEQ ID NO: 167及/或168)。在一實施例中，本發明之抗體包含含有HVR1-HC、HVR2-HC及/或HVR3-HC序列(圖15，SEQ ID NO: 164-166)及FR1-HC、FR2-HC、FR3-HC及/或FR4-HC序列(圖15，SEQ ID NO: 160-163)之重鏈可變域。在一實施例中，本發明之抗體包含含有HVR1-HC、HVR2-HC及/或HVR3-HC序列(圖15，SEQ ID NO: 164-166)及圖15中所示之CH1及/或Fc序列(SEQ ID NO: 167及/或168)之重鏈可變域。在一實施例

中，本發明之抗體包含含有HVR1-HC、HVR2-HC及/或HVR3-HC序列(圖15，SEQ ID NO: 164-166)及FR1-HC、FR2-HC、FR3-HC及/或FR4-HC序列(圖15，SEQ ID NO: 160-163)及CH1及/或Fc(圖15，SEQ ID NO: 167及/或168)之重鏈可變域。

在一態樣中，本發明提供一種抗體，其包含含有圖15中所示之HVR1-LC、HVR2-LC及/或HVR3-LC序列(SEQ ID NO: 156-158)之輕鏈可變域。在一實施例中，該可變域包含圖15中所示之FR1-LC、FR2-LC、FR3-LC及/或FR4-LC序列(SEQ ID NO: 152-155)。在一實施例中，該抗體包含圖15中所示之CL1序列(SEQ ID NO: 159)。在一實施例中，本發明之抗體包含含有圖15中所示之HVR1-LC、HVR2-LC及/或HVR3-LC序列(SEQ ID NO: 156-158)及FR1-LC、FR2-LC、FR3-LC及/或FR4-LC序列(SEQ ID NO: 152-155)之輕鏈可變域。在一實施例中，本發明之抗體包含含有圖15中所示之HVR1-LC、HVR2-LC及/或HVR3-LC序列(SEQ ID NO: 156-158)及CL1序列(SEQ ID NO: 159)之輕鏈可變域。在一實施例中，本發明之抗體包含含有圖15中所示之HVR1-LC、HVR2-LC及/或HVR3-LC序列(SEQ ID NO: 156-158)及FR1-LC、FR2-LC、FR3-LC及/或FR4-LC(SEQ ID NO: 152-155)序列及圖15中所示之CL1序列(SEQ ID NO: 159)之輕鏈可變域。

在一態樣中，本發明提供一種抗體，其包含含有圖16中所示之HVR1-HC、HVR2-HC及/或HVR3-HC序列(SEQ ID NO: 183-185)之重鏈可變域。在一實施例中，該可變域包含圖16中所示之FR1-HC、FR2-HC、FR3-HC及/或FR4-HC序列(SEQ ID NO: 179-182)。在一實施例中，該抗體包含圖16中所示之CH1及/或Fc序列(SEQ ID NO: 186及/或187)。在一實施例中，本發明之抗體包含含有HVR1-HC、HVR2-HC及/或HVR3-HC序列(圖16，SEQ ID NO: 183-185)及FR1-HC、FR2-HC、FR3-HC及/或FR4-HC序列(圖16，SEQ ID NO: 179-182)之重鏈可

變域。在一實施例中，本發明之抗體包含含有HVR1-HC、HVR2-HC及/或HVR3-HC序列(圖16，SEQ ID NO: 183-185)及圖16中所示之CH1及/或Fc序列(SEQ ID NO: 186及/或187)之重鏈可變域。在一實施例中，本發明之抗體包含含有HVR1-HC、HVR2-HC及/或HVR3-HC序列(圖16，SEQ ID NO: 183-185)及FR1-HC、FR2-HC、FR3-HC及/或FR4-HC序列(圖16，SEQ ID NO: 179-182)及CH1及/或Fc(圖16，SEQ ID NO: 186及/或187)之重鏈可變域。

在一態樣中，本發明提供一種抗體，其包含含有圖16中所示之HVR1-LC、HVR2-LC及/或HVR3-LC序列(SEQ ID NO: 175-177)之輕鏈可變域。在一實施例中，該可變域包含圖16中所示之FR1-LC、FR2-LC、FR3-LC及/或FR4-LC序列(SEQ ID NO: 171-174)。在一實施例中，該抗體包含圖16中所示之CL1序列(SEQ ID NO: 178)。在一實施例中，本發明之抗體包含含有圖16中所示之HVR1-LC、HVR2-LC及/或HVR3-LC序列(SEQ ID NO: 175-177)及FR1-LC、FR2-LC、FR3-LC及/或FR4-LC序列(SEQ ID NO: 171-174)之輕鏈可變域。在一實施例中，本發明之抗體包含含有圖16中所示之HVR1-LC、HVR2-LC及/或HVR3-LC序列(SEQ ID NO: 175-177)及CL1序列(SEQ ID NO: 178)之輕鏈可變域。在一實施例中，本發明之抗體包含含有圖16中所示之HVR1-LC、HVR2-LC及/或HVR3-LC序列(SEQ ID NO: 175-177)及FR1-LC、FR2-LC、FR3-LC及/或FR4-LC(SEQ ID NO: 171-174)序列及圖16中所示之CL1序列(SEQ ID NO: 178)之輕鏈可變域。

在一態樣中，本發明提供一種抗體，其包含含有圖17中所示之HVR1-HC、HVR2-HC及/或HVR3-HC序列(SEQ ID NO: 202-204)之重鏈可變域。在一實施例中，該可變域包含圖17中所示之FR1-HC、FR2-HC、FR3-HC及/或FR4-HC序列(SEQ ID NO: 198-201)。在一實施例中，該抗體包含圖17中所示之CH1及/或Fc序列(SEQ ID NO: 205及/

或206)。在一實施例中，本發明之抗體包含含有HVR1-HC、HVR2-HC及/或HVR3-HC序列(圖17，SEQ ID NO: 202-204)及FR1-HC、FR2-HC、FR3-HC及/或FR4-HC序列(圖17，SEQ ID NO: 198-201)之重鏈可變域。在一實施例中，本發明之抗體包含含有HVR1-HC、HVR2-HC及/或HVR3-HC序列(圖17，SEQ ID NO: 202-204)及圖17中所示之CH1及/或Fc序列(SEQ ID NO: 205及/或206)之重鏈可變域。在一實施例中，本發明之抗體包含含有HVR1-HC、HVR2-HC及/或HVR3-HC序列(圖17，SEQ ID NO: 202-204)及FR1-HC、FR2-HC、FR3-HC及/或FR4-HC序列(圖17，SEQ ID NO: 198-201)及CH1及/或Fc(圖17，SEQ ID NO: 205及/或206)之重鏈可變域。

在一態樣中，本發明提供一種抗體，其包含含有圖17中所示之HVR1-LC、HVR2-LC及/或HVR3-LC序列(SEQ ID NO: 194-196)之輕鏈可變域。在一實施例中，該可變域包含圖17中所示之FR1-LC、FR2-LC、FR3-LC及/或FR4-LC序列(SEQ ID NO: 190-193)。在一實施例中，該抗體包含圖17中所示之CL1序列(SEQ ID NO: 197)。在一實施例中，本發明之抗體包含含有圖17中所示之HVR1-LC、HVR2-LC及/或HVR3-LC序列(SEQ ID NO: 194-196)及FR1-LC、FR2-LC、FR3-LC及/或FR4-LC序列(SEQ ID NO: 190-193)之輕鏈可變域。在一實施例中，本發明之抗體包含含有圖17中所示之HVR1-LC、HVR2-LC及/或HVR3-LC序列(SEQ ID NO: 194-196)及CL1序列(SEQ ID NO: 197)之輕鏈可變域。在一實施例中，本發明之抗體包含含有圖17中所示之HVR1-LC、HVR2-LC及/或HVR3-LC序列(SEQ ID NO: 194-196)及FR1-LC、FR2-LC、FR3-LC及/或FR4-LC(SEQ ID NO: 190-193)序列及圖17中所示之CL1序列(SEQ ID NO: 197)之輕鏈可變域。

在一態樣中，本發明提供一種抗體，其包含含有圖18中所示之HVR1-HC、HVR2-HC及/或HVR3-HC序列(SEQ ID NO: 221-223)之重

鏈可變域。在一實施例中，該可變域包含圖18中所示之FR1-HC、FR2-HC、FR3-HC及/或FR4-HC序列(SEQ ID NO: 217-220)。在一實施例中，該抗體包含圖18中所示之CH1及/或Fc序列(SEQ ID NO: 224及/或225)。在一實施例中，本發明之抗體包含含有HVR1-HC、HVR2-HC及/或HVR3-HC序列(圖18，SEQ ID NO: 221-223)及FR1-HC、FR2-HC、FR3-HC及/或FR4-HC序列(圖18，SEQ ID NO: 217-220)之重鏈可變域。在一實施例中，本發明之抗體包含含有HVR1-HC、HVR2-HC及/或HVR3-HC序列(圖18，SEQ ID NO: 221-223)及圖18中所示之CH1及/或Fc序列(SEQ ID NO: 224及/或225)之重鏈可變域。在一實施例中，本發明之抗體包含含有HVR1-HC、HVR2-HC及/或HVR3-HC序列(圖18，SEQ ID NO: 221-223)及FR1-HC、FR2-HC、FR3-HC及/或FR4-HC序列(圖18，SEQ ID NO: 217-220)及CH1及/或Fc(圖18，SEQ ID NO: 224及/或225)之重鏈可變域。

在一態樣中，本發明提供一種抗體，其包含含有圖18中所示之HVR1-LC、HVR2-LC及/或HVR3-LC序列(SEQ ID NO: 213-215)之輕鏈可變域。在一實施例中，該可變域包含圖18中所示之FR1-LC、FR2-LC、FR3-LC及/或FR4-LC序列(SEQ ID NO: 209-212)。在一實施例中，該抗體包含圖18中所示之CL1序列(SEQ ID NO: 216)。在一實施例中，本發明之抗體包含含有圖18中所示之HVR1-LC、HVR2-LC及/或HVR3-LC序列(SEQ ID NO: 213-215)及FR1-LC、FR2-LC、FR3-LC及/或FR4-LC序列(SEQ ID NO: 209-212)之輕鏈可變域。在一實施例中，本發明之抗體包含含有圖18中所示之HVR1-LC、HVR2-LC及/或HVR3-LC序列(SEQ ID NO: 213-215)及CL1序列(SEQ ID NO: 216)之輕鏈可變域。在一實施例中，本發明之抗體包含含有圖18中所示之HVR1-LC、HVR2-LC及/或HVR3-LC序列(SEQ ID NO: 213-215)及FR1-LC、FR2-LC、FR3-LC及/或FR4-LC(SEQ ID NO: 209-212)序列及

圖18中所示之CL1序列(SEQ ID NO: 216)之輕鏈可變域。

在一態樣中，本發明之抗體包括半胱胺酸工程化抗體，其中親本抗體之一或多個胺基酸如WO2006/034488、US 2007/0092940(以全文引用的方式併入本文中)中所揭示經游離半胱胺酸胺基酸置換。任何形式之抗-CD79b抗體可如此經工程化，亦即突變。舉例而言，親本Fab抗體片段可經工程化以形成半胱胺酸工程化Fab，本文中稱為"ThioFab"。類似地，親本單株抗體可經工程化以形成"ThioMab"。應注意，單一位點突變在ThioFab中產生單一工程化半胱胺酸殘基，而由於IgG抗體之二聚性質，單一位點突變在ThioMab中產生兩個工程化半胱胺酸殘基。本發明之半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體包括單株抗體、人類化或嵌合單株抗體及抗體之抗原結合片段、融合多肽及優先結合細胞相關CD79b多肽之類似物。或者，半胱胺酸工程化抗體可包含於抗體或Fab中之本文所揭示之位置處包含半胱胺酸的抗體，此由抗體之序列設計及/或選擇產生，但不一定改變親本抗體，諸如藉由噬菌體呈現抗體設計及選擇或經由輕鏈及/或重鏈構架序列及恆定區之重新設計來達成。半胱胺酸工程化抗體包含一或多個具有在0.6至1.0、0.7至1.0或0.8至1.0之範圍內之硫醇反應性值的游離半胱胺酸胺基酸。游離半胱胺酸胺基酸為已工程化至親本抗體中且不為二硫橋之部分的半胱胺酸殘基。半胱胺酸工程化抗體適用於經由(例如)順丁烯二醯亞胺或鹵乙醯基使細胞毒性及/或成像化合物連接於工程化半胱胺酸之位點處。Cys殘基之硫醇官能基對順丁烯二醯亞胺基團之親核反應性與蛋白質中之任何其他胺基酸官能基(諸如離胺酸殘基之胺基或N末端胺基)相比高約1000倍。碘乙醯基及順丁烯二醯亞胺試劑中之硫醇特異性官能基可與胺基反應，但需要較高pH值(>9.0)及較長反應時間(Garman, 1997, Non-Radioactive Labelling: A Practical Approach, Academic Press, London)。

在一態樣中，本發明之半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體包含於下列位置之任一者處之工程化半胱胺酸，其中輕鏈中之位置係根據kabat等人編號(參見Kabat等人(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest，第5版，Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD)且重鏈(包括Fc區)中之位置係根據EU編號來編號(參見Kabat等人(1991)，見上)，其中圖24A、25A、26A、27A、28、48A及49A中藉由加下劃線描繪之輕鏈恆定區開始於位置109(Kabat編號)且圖24B、25B、26B、27B、28B、48B及49B中藉由加下劃線描繪之重鏈恆定區開始於位置118(EU編號)。該位置亦可以其在圖24-28、48及49中所示之全長輕鏈或重鏈之胺基酸的序列編號中之位置來提及。根據本發明之一實施例，抗-CD79b抗體包含於LC-V205C處之工程化半胱胺酸(在圖27A及49A中，Kabat編號：Val 205；序列編號209，於彼位置處工程化為Cys)。在圖27A及49A中，輕鏈中之工程化半胱胺酸係以粗體、雙下劃線文字顯示。根據一實施例，抗-CD79b抗體包含於HC-A118C處之工程化半胱胺酸(在圖24B、25B、26B、28B或48B中，EU編號：Ala 118；Kabat編號114；序列編號118，於彼位置處工程化為Cys)。在圖24B、25B、26B、28B或48B中，重鏈中之工程化半胱胺酸係以粗體、雙下劃線文字顯示。根據一實施例，抗-CD79b抗體包含於Fc-S400C處之工程化半胱胺酸(在圖24B、25B、26B、28B或48B中，EU編號：Ser 400；Kabat編號396；序列編號400，於彼位置處工程化為Cys)。在其他實施例中，重鏈(包括Fc區)之工程化半胱胺酸位於下列位置之任一者處(根據Kabat編號，括號中為EU編號)：5、23、84、112、114(EU編號為118)、116(EU編號為120)、278(EU編號為282)、371(EU編號為375)或396(EU編號為400)。因此，本發明之親本人類化抗-CD79b抗體之此等位置處的胺基酸之變化為：V5C、A23C、A84C、S112C、A114C(EU編號為

A118C)、T116C(EU編號為T120C)、V278C(EU編號為V282C)、S371C(EU編號為S375C)或S396C(EU編號為S400C)。因此，本發明之親本嵌合抗-CD79b抗體之此等位置處的胺基酸之變化為：Q5C、K23C、S84C、S112C、A114C(EU編號為A118C)、T116C(EU編號為T120C)、V278C(EU編號為V282C)、S371C(EU編號為S375C)或S396C(EU編號為S400C)。因此，本發明之親本抗-cynoCD79b抗體之此等位置處的胺基酸之變化為：Q5C、T23C、S84C、S112C、A114C(EU編號為A118C)、T116C(EU編號為T120C)、V278C(EU編號為V282C)、S371C(EU編號為S375C)或S396C(EU編號為S400C)。在其他實施例中，輕鏈之工程化半胱胺酸位於下列位置之任一者處(根據Kabat編號)：15、110、114、121、127、168、205。因此，本發明之親本人類化抗-CD79b抗體之此等位置處的胺基酸之變化為：V15C、V110C、S114C、S121C、S127C、S168C或V205C。因此，本發明之親本嵌合抗-CD79b抗體之此等位置處的胺基酸之變化為：L15C、V110C、S114C、S121C、S127C、S168C或V205C。因此，本發明之親本抗-cynoCD79b抗體之此等位置處的胺基酸之變化為：L15C、V110C、S114C、S121C、S127C、S168C或V205C。

在一態樣中，本發明包括一種包含一或多個游離半胱胺酸胺基酸之半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體，其中該半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體結合於CD79b多肽且係藉由包含由半胱胺酸置換親本抗-CD79b抗體之一或多個胺基酸殘基之方法來製備，其中該親本抗體包含至少一個選自下列者之HVR序列：

(a)包含序列A1-A15之HVR-L1，其中A1-A15為KASQSVDYDGDSFLN(SEQ ID NO: 131)或KASQSVDYEGDSFLN(SEQ ID NO: 137)；

(b)包含序列B1-B7之HVR-L2，其中B1-B7為AASNLES (SEQ ID

NO: 132)；

(c)包含序列C1-C9之HVR-L3，其中C1-C9為QQSNEDPLT(SEQ ID NO: 133)；

(d)包含序列D1-D10之HVR-H1，其中D1-D10為GYTFSSYWIE (SEQ ID NO: 134)；

(e)包含序列E1-E18之HVR-H2，其中E1-E18為GEILPGGGDTNYNEIFKG(SEQ ID NO: 135)；及

(f)包含序列F1-F10之HVR-H3，其中F1-F10為TRRVPVYFDY(SEQ ID NO: 136)或TRRVPIRLDY (SEQ ID NO: 138)。

在某一態樣中，本發明係關於一種半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體，其包含與具有如本文所揭示之全長胺基酸序列之半胱胺酸工程化抗體或缺乏如本文所揭示之信號肽之半胱胺酸工程化抗體胺基酸序列具有至少約80%胺基酸序列一致性或者至少約81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%胺基酸序列一致性的胺基酸序列。

在又一態樣中，本發明係關於一種經分離之半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體，其包含由與編碼下列各者之DNA分子之補體雜交的核苷酸序列編碼之胺基酸序列：(a)具有如本文所揭示之全長胺基酸序列之半胱胺酸工程化抗體；(b)缺乏如本文所揭示之信號肽之半胱胺酸工程化抗體胺基酸序列；(c)具有或無如本文所揭示之信號肽的跨膜半胱胺酸工程化抗體蛋白質之胞外域；(d)由本文所揭示之核酸序列之任一者編碼的胺基酸序列；或(e)如本文所揭示之全長半胱胺酸工程化抗體胺基酸序列之任何其他經具體定義的片段。

在一特定態樣中，本發明提供一種無N末端信號序列及/或無起始甲硫胺酸且由可編碼如所描述之此類胺基酸序列之核苷酸序列編碼

的經分離之半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體。本文中亦描述製造該抗體之方法，其中彼等方法包含在適合於表現半胱胺酸工程化抗體之條件下培養包含含有適當編碼核酸分子之載體之宿主細胞及自細胞培養物回收半胱胺酸工程化抗體。

本發明之另一態樣提供一種經分離之半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體，其缺失跨膜域或跨膜域失活。本文中亦描述製造該抗體之方法，其中彼等方法包含在適合於表現半胱胺酸工程化抗體之條件下培養包含含有適當編碼核酸分子之載體之宿主細胞及自細胞培養物回收半胱胺酸工程化抗體。

在其他態樣中，本發明提供經分離之抗-CD79b嵌合半胱胺酸工程化抗體，其包含與異源(非CD79b)多肽融合之本文中所述之半胱胺酸工程化抗體的任一者。該等嵌合分子之實例包含與異源多肽(諸如免疫球蛋白之抗原決定基標記序列或Fc區)融合的本文中所述之半胱胺酸工程化抗體的任一者。

半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體可為單株抗體、抗體片段、嵌合抗體、人類化抗體、單鏈抗體或競爭性抑制抗-CD79b多肽抗體與其各別抗原性抗原決定基之結合之抗體。本發明之抗體可視情況與生長抑制劑或細胞毒性劑共軛，該生長抑制劑或細胞毒性劑諸如毒素，包括(例如)奧瑞他汀、美登素類、海兔毒素衍生物或卡奇黴素、抗生素、放射性同位素、溶核酶或其類似物。本發明之抗體可視情況於CHO細胞或細菌細胞中產生且較佳抑制其所結合之細胞之生長或增生或引起其所結合之細胞死亡。出於診斷目的，本發明之抗體可以可偵測方式標記、連接於固體支撐物或其類似情況。

在本發明之其他態樣中，本發明提供包含編碼本文中所述之抗-CD79b抗體及抗-CD79b半胱胺酸工程化抗體中之任一者的DNA之載體。亦提供包含任何此類載體之宿主細胞。舉例而言，宿主細胞可為

CHO細胞、大腸桿菌(E. coli)細胞或酵母細胞。進一步提供一種製造本文中所述之多肽中之任一者的方法且該方法包含在適合於表現所需多肽之條件下培養宿主細胞及自細胞培養物回收所需多肽。

半胱胺酸工程化抗體可適用於治療癌症且包括對細胞表面及跨膜受體及腫瘤相關抗原(TAA)具特異性之抗體。該等抗體可以裸抗體(未與藥物或標記部分共軛)或以抗體-藥物共軛物(ADC)形式使用。本發明之半胱胺酸工程化抗體可位點特異性地及有效地與硫醇反應性試劑偶合。該硫醇反應性試劑可為多官能連接子試劑、捕捉標記試劑、螢光團試劑或藥物-連接子中間物。半胱胺酸工程化抗體可用可偵測標記標記，固定於固相支撐物上及/或與藥物部分共軛。硫醇反應性可經推廣適用於任何抗體，其中由反應性半胱胺酸胺基酸取代胺基酸可在輕鏈中於選自下列胺基酸範圍之範圍內產生：L10-L20、L105-L115、L109-L119、L116-L126、L122-L132、L163-L173、L200-L210；及在重鏈中於選自下列胺基酸範圍之範圍內產生：H1-H10、H18-H28、H79-H89、H107-H117、H109-H119、H111-H121；及在Fc區中於選自H270-H280、H366-H376、H391-401之範圍內產生，其中胺基酸位置之編號開始於Kabat編號系統之位置1(Kabat等人(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest，第5版，Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD)且之後如WO 2006034488、US 2007/0092940中所揭示依序繼續。硫醇反應性亦可經推廣適用於抗體之某些域，諸如輕鏈恆定域(CL)及重鏈恆定域CH1、CH2及CH3。導致0.6及更高之硫醇反應性值之半胱胺酸置換可分別在下列完整抗體之重鏈恆定域α、δ、ε、γ及μ中產生：IgA、IgD、IgE、IgG及IgM，包括IgG亞類：IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA及IgA2。該等抗體及其用途係揭示於WO 2006/034488、US 2007/0092940中。

本發明之半胱胺酸工程化抗體較佳保留其野生型親本抗體對應物之抗原結合能力。因此，半胱胺酸工程化抗體能夠(較佳特異性地)結合於抗原。該等抗原包括(例如)腫瘤相關抗原(TAA)、細胞表面受體蛋白及其他細胞表面分子、跨膜蛋白、信號轉導蛋白、細胞存活調節因子、細胞增生調節因子、與組織發育或分化相關(例如，已知或懷疑功能上有促進作用)之分子、淋巴因子、細胞因子、涉及細胞週期調節之分子、涉及血管發生之分子及與血管生成相關(例如，已知或懷疑功能上有促進作用)之分子。腫瘤相關抗原可為簇群分化因子(亦即CD蛋白，包括(但不限於)CD79b)。本發明之半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體保留其親本抗-CD79b抗體對應物之抗原結合能力。因此，本發明之半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體能夠(較佳特異性地)結合至包括人類抗-CD79b同功異型物β及/或α之CD79b抗原，包括當該等抗原表現於包括(但不限於)B細胞之細胞表面上時。

在一態樣中，本發明之抗體可與任何標記部分共軛，該標記部分可經由反應性部分、活化部分或反應性半胱胺酸硫醇基共價連接於抗體(Singh等人(2002) Anal. Biochem. 304:147-15；Harlow E.及Lane, D. (1999) Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Springs Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY；Lundblad R.L. (1991) Chemical Reagents for Protein Modification，第2版CRC Press, Boca Raton, FL)。所連接之標記可用於：(i)提供可偵測信號；(ii)與第二標記相互作用以改良由第一或第二標記提供之可檢測信號，例如產生FRET(螢光共振能量轉移)；(iii)使與抗原或配位體之相互作用穩定或增加與抗原或配位體之結合親和力；(iv)藉由電荷、疏水性、形狀或其他物理參數影響遷移率，例如電泳遷移率或細胞滲透率；或(v)提供捕捉部分，以調節配位體親和力、抗體/抗原結合或離子錯合。

經標記之半胱胺酸工程化抗體可適用於診斷檢定，例如偵測所

關注之抗原於特定細胞、組織或血清中之表現。對於診斷應用而言，該抗體通常將用可偵測部分標記。可利用眾多標記，其一般可分為下列類別：

放射性同位素(放射性核種)，諸如有^{3}H、^{11}C、^{14}C、^{18}F、^{32}P、^{35}S、^{64}Cu、^{68}Ga、^{86}Y、^{99}Tc、^{111}In、^{123}I、^{124}I、^{125}I、^{131}I、^{133}Xe、^{177}Lu、^{211}At或^{213}Bi。放射性同位素標記之抗體適用於受體靶向成像實驗。抗體可使用Current Protocols in Immunology，第1及2卷，Coligen等人編，Wiley-Interscience, New York, NY, Pubs. (1991)中所述之技術用可結合、螯合或者錯合放射性同位素金屬之配位體試劑標記，其中該試劑可與抗體之工程化半胱胺酸硫醇反應。可錯合金屬離子之螯合配位體包括DOTA、DOTP、DOTMA、DTPA及TETA(Macrocyclics, Dallas, TX)。放射性核種可經由與本發明之抗體-藥物共軛物錯合來靶向(Wu等人(2005) Nature Biotechnology 23(9):1137-1146)。

諸如DOTA-順丁烯二醯亞胺(4-順丁烯二醯亞胺基丁醯胺基苄基-DOTA)之連接子試劑可按照Axworthy等人(2000) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97(4):1802-1807之程序藉由胺基苄基-DOTA與經氯甲酸異丙酯(Aldrich)活化之4-順丁烯二醯亞胺基丁酸(Fluka)反應來製備。DOTA-順丁烯二醯亞胺試劑與半胱胺酸工程化抗體之游離半胱胺酸胺基酸反應且於抗體上提供金屬錯合配位體(Lewis等人(1998) Bioconj. Chem. 9:72-86)。諸如DOTA-NHS(1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1,4,7,10-四乙酸單(N-羥基丁二醯亞胺酯))之螯合連接子標記試劑為市售的(Macrocyclics, Dallas, TX)。用放射性核種標記抗體進行受體靶向成像可藉由偵測及量化腫瘤組織中抗體之進行性積累而提供路徑活化之標誌(Albert等人(1998) Bioorg. Med. Chem. Lett. 8:1207-1210)。共軛之放射金屬可在溶酶體降解後保留在細胞內。

適用作成像實驗之抗體標記之金屬-螯合物錯合物揭示於以下專利文獻中：US 5342606；US 5428155；US 5316757；US 5480990；US 5462725；US 5428139；US 5385893；US 5739294；US 5750660；US 5834456；Hnatowich等人(1983) J. Immunol. Methods 65:147-157；Meares等人(1984) Anal. Biochem. 142:68-78；Mirzadeh等人(1990) Bioconjugate Chem. 1:59-65；Meares等人(1990) J. Cancer1990, Suppl. 10:21-26；Izard等人(1992) Bioconjugate Chem. 3:346-350；Nikula等人(1995) Nucl. Med. Biol. 22:387-90；Camera等人(1993) Nucl. Med. Biol. 20:955-62；Kukis等人(1998) J. Nucl. Med. 39:2105-2110；Verel等人(2003) J. Nucl. Med. 44:1663-1670；Camera等人(1994) J. Nucl. Med. 21:640-646；Ruegg等人(1990) Cancer Res. 50:4221-4226；Verel等人(2003) J. Nucl. Med. 44:1663-1670；Lee等人(2001) Cancer Res. 61:4474-4482；Mitchell,等人(2003) J. Nucl. Med. 44:1105-1112；Kobayashi等人(1999) Bioconjugate Chem. 10:103-111；Miederer等人(2004) J. Nucl. Med. 45:129-137；DeNardo等人(1998) Clinical Cancer Research 4:2483-90；Blend等人(2003) Cancer Biotherapy & Radiopharmaceuticals 18:355-363；Nikula等人(1999) J. Nucl. Med. 40:166-76；Kobayashi等人(1998) J. Nucl. Med. 39:829-36；Mardirossian等人(1993) Nucl. Med. Biol. 20:65-74；Roselli等人(1999) Cancer Biotherapy & Radiopharmaceuticals, 14:209-20。

螢光標記，諸如有稀土螯合物(銪螯合物)；螢光素類型，包括FITC、5-羧基螢光素、6-羧基螢光素；若丹明(rhodamine)類型，包括TAMRA；丹醯；麗絲胺(Lissamine)；花青；藻紅蛋白；得克薩斯紅(Texas Red)；及其類似物。該等螢光標記可使用例如Current Protocols in Immunology(見上)中所揭示之技術與抗體共軛。螢光染料及螢光標記試劑包括可購自Invitrogen/Molecular Probes(Eugene, OR)

及Pierce Biotechnology, Inc.(Rockford, IL)之彼等者。

各種酶-受質標記係可利用的或已有揭示(US 4275149)。酶一般催化產色受質之化學變化，此可使用各種技術量測。舉例而言，酶可催化受質之變色，此可用分光光度計量測。或者，酶可改變受質之螢光或化學發光。量化螢光變化之技術已在上文描述。化學發光受質藉由化學反應而變成電子激發態且因而能發射可被量測到(例如使用化學光度計)或向螢光受體提供能量之光。酶促標記之實例包括螢光素酶(例如，螢火蟲螢光素酶及細菌螢光素酶；US 4737456)、螢光素、2,3-二氫酞嗪二酮、蘋果酸脫氫酶、尿素酶、過氧化酶(諸如辣根過氧化酶(HRP))、鹼性磷酸酶(AP)、β-半乳糖苷酶、葡糖澱粉酶、溶菌酶、醣氧化酶(例如，葡萄糖氧化酶、半乳糖氧化酶及葡萄糖-6-磷酸脫氫酶)、雜環氧化酶(諸如尿酸酶及黃嘌呤氧化酶)、乳過氧化物酶、微過氧化物酶及其類似酶。使酶與抗體共軛之技術係描述於O'Sullivan等人(1981) "Methods for the Preparation of Enzyme-Antibody Conjugates for use in Enzyme Immunoassay"，in Methods in Enzym. (ed J. Langone & H. Van Vunakis), Academic Press, New York, 73:147-166中。

酶-受質組合之實例包括(例如)：

(i)辣根過氧化酶(HRP)與作為受質之過氧化氫酶，其中該過氧化氫酶氧化染料前驅體(例如，鄰苯二胺(OPD)或3,3',5,5'-四甲基聯苯胺鹽酸鹽(TMB))；

(ii)鹼性磷酸酶(AP)與作為產色受質之對硝基苯基磷酸鹽；及

(iii) β-D-半乳糖苷酶(β-D-Gal)與產色受質(例如，對硝基苯基-β-D-半乳糖苷酶)或螢光受質4-甲基傘形酮-β-D-半乳糖苷酶。

許多其他酶-受質組合可為熟習此項技術者所利用。關於綜合評述，參見US 4275149及US 4318980。

標記可間接與胺基酸側鏈、活化胺基酸側鏈、半胱胺酸工程化抗體及其類似物共軛。舉例而言，抗體可與生物素共軛且上文所提及之三大類標記中之任一者可與抗生物素蛋白或抗生蛋白鏈菌素共軛，或反之亦然。生物素選擇性地結合於抗生蛋白鏈菌素且因此標記可以此間接方式與抗體共軛。或者，為達成標記與多肽變異體之間接共軛，使多肽變異體與小半抗原(例如地高辛(digoxin))共軛且使上文所提及之不同類標記中之一者與抗-半抗原多肽變異體(例如抗-地高辛抗體)共軛。因此，可達成標記與多肽變異體之間接共軛(Hermanson, G. (1996), Bioconjugate Techniques Academic Press, San Diego)。

本發明之抗體可用於任何已知檢定方法，諸如ELISA、競爭性結合檢定、直接及間接夾層檢定及免疫沈澱檢定(Zola, (1987) Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques，第147-158頁，CRC Press, Inc.)。

偵測標記可適用於定位、觀察及定量結合或識別事件。本發明之經標記之抗體可偵測細胞表面受體。可偵測標記之抗體之另一用途為基於珠粒之免疫捕捉之方法，其包含使珠粒與螢光標記之抗體共軛且在結合配位體後偵測螢光信號。類似結合偵測方法利用表面電漿共振(SPR)效應來量測及偵測抗體-抗原相互作用。

諸如螢光染料及化學發光染料之偵測標記(Briggs等人(1997) "Synthesis of Functionalised Fluorescent Dyes and Their Coupling to Amines and Amino Acids," J. Chem. Soc., Perkin-Trans. 1:1051-1058)提供可偵測信號且一般適用於標記抗體，其較佳具有以下特性：(i)經標記之抗體應在低本底情況下產生極高信號以便可在無細胞及基於細胞之檢定中靈敏地偵測到少量抗體；及(ii)經標記之抗體應為不感光的以便可觀察、監測及記錄螢光信號但無顯著光致漂白。對於涉及經標記之抗體與膜或細胞表面(尤其活細胞)之細胞表面結合的應用而言，

標記較佳(iii)具有良好水溶性以達成有效共軛濃度及偵測敏感性且(iv)對活細胞無毒以免破壞細胞之正常代謝過程或引起早熟細胞死亡。

細胞螢光強度之直接量化及螢光標記事件(例如肽-染料共軛物之細胞表面結合)之列舉可用使使用活細胞或珠粒之混合及讀取、非放射性檢定(Miraglia, "Homogeneous cell- and bead-based assays for high throughput screening using fluorometric microvolume assay technology", (1999) J. of Biomolecular Screening 4:193-204)自動化之系統(FMAT® 8100 HTS System, Applied Biosystems, Foster City, Calif.)進行。經標記之抗體之用途亦包括細胞表面受體結合檢定、免疫捕捉檢定、螢光連接免疫吸附檢定(FLISA)、卡斯蛋白酶(caspase)裂解(Zheng, "Caspase-3 controls both cytoplasmic and nuclear events associated with Fas-mediated apoptosis in vivo", (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:618-23; US 6372907)、細胞凋亡(Vermes, "A novel assay for apoptosis. Flow cytometric detection of phosphatidylserine expression on early apoptotic cells using fluorescein labelled Annexin V" (1995) J. Immunol. Methods 184:39-51)及細胞毒性檢定。螢光微量檢定技術可用於藉由靶向細胞表面之分子來鑑別上調或下調(Swartzman, "A homogeneous and multiplexed immunoassay for high-throughput screening using fluorometric microvolume assay technology", (1999) Anal. Biochem. 271:143-51)。

本發明之經標記之抗體適用作諸如以下之各種生物醫學及分子成像方法及技術的成像生物標誌及探針：(i)MRI(磁共振成像)；(ii)MicroCT(電腦斷層攝影術)；(iii)SPECT(單光子放射電腦斷層攝影術)；(iv)PET(正電子放射斷層攝影術)(Chen等人，(2004) Bioconjugate Chem. 15:41-49)；(v)生物發光；(vi)螢光；及(vii)超音

波。免疫閃爍攝影術係一種成像程序，其中向動物或人類患者投與用放射性物質標記之抗體且對身體內抗體定位之部位拍照(US 6528624)。成像生物標誌可客觀地加以量測且作為正常生物過程、病原性過程或對治療介入之藥理學反應之指示物加以評估。生物標誌可具有若干類型：0型為疾病之自然史標誌且與已知臨床指標縱向相關，例如類風濕性關節炎之滑膜炎症之MRI評估；I型標誌根據作用機制捕捉介入之效應，即使該機制可能與臨床結果無關亦然；II型標誌起替代性終點之作用，其中生物標誌之變化或來自生物標誌之信號預示使靶向反應生效之臨床益處，諸如藉由CT量測之類風濕性關節炎之骨侵蝕。因此，成像生物標誌可提供關於以下內容之藥效學(PD)治療資訊：(i)靶蛋白質之表現；(ii)治療劑與靶蛋白質之結合，亦即選擇性；及(iii)清除率及半衰期藥物動力學資料。活體內成像生物標誌相對於基於實驗室之生物標誌之優點包括：非侵入性治療、可定量之全身評估、反覆給藥及評估(亦即多時間點)及自臨床前(小動物)至臨床(人類)結果之潛在可轉移之效應。對於一些應用而言，生物成像替代或減少臨床前研究中動物實驗之數目。

肽標記方法係眾所周知的。參見Haugland, 2003, Molecular Probes Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals, Molecular Probes, Inc.；Brinkley, 1992, Bioconjugate Chem. 3:2；Garman, (1997) Non-Radioactive Labelling: A Practical Approach, Academic Press, London; Means (1990) Bioconjugate Chem. 1:2；Glazer等人(1975) Chemical Modification of Proteins. Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology (T. S. Work and E. Work, Eds.) American Elsevier Publishing Co., New York；Lundblad, R. L.及Noyes, C. M. (1984) Chemical Reagents for Protein Modification，第I及II卷，CRC Press, New York; Pfleiderer, G. (1985) "Chemical

Modification of Proteins"，Modern Methods in Protein Chemistry, H. Tschesche編，Walter DeGryter, Berlin及New York；及Wong (1991) Chemistry of Protein Conjugation and Cross-linking, CRC Press, Boca Raton, Fla.；De Leon-Rodriguez等人(2004) Chem.Eur. J. 10:1149-1155；Lewis等人(2001) Bioconjugate Chem. 12:320-324；Li等人(2002) Bioconjugate Chem. 13:110-115；Mier等人(2005) Bioconjugate Chem. 16:240-237。

用足夠接近之兩個部分(亦即螢光報導體及抑止劑)標記之肽及蛋白質經歷螢光共振能量轉移(FRET)。報導體基團通常為可由某一波長之光激發且以適於以最大亮度發射之斯托克斯位移(Stokes shift)將能量轉移至受體或抑止劑、基團之螢光染料。螢光染料包括具有擴大之芳香性之分子，諸如螢光素及若丹明，及其衍生物。螢光報導體可由完整肽中之抑止劑部分部分或顯著抑止。由肽酶或蛋白酶裂解肽後，可量測螢光之可偵測增加(Knight, C. (1995) "Fluorimetric Assays of Proteolytic Enzymes"，Methods in Enzymology, Academic Press, 248:18-34)。

本發明之經標記之抗體亦可用作親和力純化藥劑。在此方法中，使用此項技術中熟知之方法將經標記之抗體固定於諸如葡聚糖凝膠樹脂或濾紙之固相上。使經固定之抗體與含有待純化之抗原之樣品接觸，且之後用合適之溶劑洗滌支撐物，此將移除樣品中除待純化之抗原外的大體上所有物質，該抗原結合於經固定之多肽變異體。最後，用諸如甘胺酸緩衝劑(pH 5.0)之另一合適溶劑洗滌支撐物，此將自多肽變異體釋放抗原。

標記試劑通常帶有反應性官能基，其可(i)直接與半胱胺酸工程化抗體之半胱胺酸硫醇反應以形成經標記之抗體；(ii)與連接子試劑反應以形成連接子-標記中間物；或(iii)與連接子抗體反應以形成經標

記之抗體。標記試劑之反應性官能基包括：順丁烯二醯亞胺、鹵乙醯基、碘乙醯胺丁二醯亞胺基酯(例如NHS、N-羥基丁二醯亞胺)、異硫氰酸酯、磺醯氯、2,6-二氯三嗪基、五氟苯基酯及亞磷醯胺，不過亦可使用其他官能基。

例示性反應性官能基為可偵測標記(例如生物素或螢光染料)之羧基取代基之N-羥基丁二醯亞胺基酯(NHS)。標記之NHS酯可預先形成，加以分離，純化及/或表徵，或其可原位形成且與抗體之親核基團反應。通常，標記之羧基形式係藉由與碳化二亞胺試劑(例如二環己基碳化二亞胺、二異丙基羰化二亞胺)或脲鎓試劑(TSTU(四氟硼酸O-(N-丁二醯亞胺基)-N,N,N',N'-四甲基鎓)、HBTU(六氟磷酸O-苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基鎓)或HATU(六氟磷酸O-(7-氮雜苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基鎓))、活化劑(諸如1-羥基苯并三唑(HOBt))及N-羥基丁二醯亞胺之一些組合反應以產生標記之NHS酯來活化。在一些情況下，標記及抗體可藉由以單步驟原位活化標記及與抗體反應以形成標記-抗體共軛物而偶合。其他活化劑及偶合劑包括TBTU(六氟磷酸2-(1H-苯并三唑-1-基)-1-1,3,3-四甲基鎓)、TFFH(2-氟-六氟磷酸N,N',N'',N'''-四甲基鎓)、PyBOP(六氟磷酸苯并三唑-1-基-氧基-參-吡咯啶基-鏻)、EEDQ(2-乙氧基-1-乙氧羰基-1,2-二氫-喹啉)、DCC(二環己基碳化二亞胺)、DIPCDI(二異丙基羰化二亞胺)、MSNT(1-(均三甲苯-2-磺醯基)-3-硝基-1H-1,2,4-三唑)及芳基磺醯基鹵化物(例如三異丙基苯磺醯氯)。

本發明之白蛋白結合肽-Fab化合物

在一態樣中，本發明之抗體與白蛋白結合蛋白融合。血漿-蛋白質結合可為改善短命分子之藥物動力學特性之有效方式。白蛋白為血漿中最豐富之蛋白質。血清白蛋白結合肽(ABP)可改變融合之活性域蛋白質之藥效學性質，包括改變組織吸收、滲透及擴散。此等藥效學

參數可藉由特定選擇適當血清白蛋白結合肽序列來調節(US 20040001827)。一系列白蛋白結合肽係藉由噬菌體呈現篩選來鑑別(Dennis等人(2002)"Albumin Binding As A General Strategy For Improving The Pharmacokinetics Of Proteins"J Biol Chem. 277:35035-35043；WO 01/45746)。本發明之化合物包括由以下文獻教示之ABP序列：(i)Dennis等人(2002) J Biol Chem. 277:35035-35043之表III及IV，第35038頁；(ii)US 20040001827之[0076] SEQ ID NOS: 9-22；及(iii)WO 01/45746之第12-13頁，所有該等文獻均以引用的方式併入本文中。白蛋白結合(ABP)-Fab係藉由以1:1化學計量比(1 ABP/1 Fab)使白蛋白結合肽與Fab重鏈之C末端融合來工程化。已顯示在兔子及小鼠中此等ABP-Fab與白蛋白之締合使抗體半衰期增加超過25倍。因此，上述反應性Cys殘基可引入此等ABP-Fab中且用於與細胞毒性藥物位點特異性共軛，接著進行活體內動物研究。

例示性白蛋白結合肽序列包括(但不限於)SEQ ID NO: 246-250中所列之胺基酸序列。

CDKTHTGGGSQRLMEDICLPRWGCLWEDDF	SEQ ID NO: 246
QRLMEDICLPRWGCLWEDDF	SEQ ID NO: 247
QRLIEDICLPRWGCLWEDDF	SEQ ID NO: 248
RLIEDICLPRWGCLWEDD	SEQ ID NO: 249
DICLPRWGCLW	SEQ ID NO: 250

抗體-藥物共軛物

在另一態樣中，本發明提供免疫共軛物或抗體-藥物共軛物(ADC)，其包含與諸如化學治療劑、藥物、生長抑制劑、毒素(例如，細菌、真菌、植物或動物來源之酶促活性毒素，或其片段)或放射性同位素(亦即，放射性共軛物)之細胞毒性劑共軛之抗體。在另一態樣中，本發明進一步提供使用該等免疫共軛物之方法。在一態樣中，免

疫共軛物包含共價連接於細胞毒性劑或可偵測藥劑之上述抗-CD79b抗體中之任一者。

在一態樣中，本發明之CD79b抗體結合於由另一CD79b抗體所結合之CD79b上之同一抗原決定基。在另一實施例中，本發明之CD79b抗體結合於由自1993年7月20日以HB11413寄存於ATCC之融合瘤產生之單株抗體、包含SEQ ID NO: 10(圖7A-B)及SEQ ID NO: 14(圖8A-B)之可變域之單株抗體或包含自1993年7月20日寄存於ATCC之HB11413融合瘤產生之抗體的可變域及來自IgG1之恆定域或包含SEQ ID NO: 10(圖7A-B)及SEQ ID NO: 14(圖8A-B)之序列之單株抗體的可變域之嵌合抗體之Fab片段所結合的CD79b上之同一抗原決定基。在另一實施例中，本發明之CD79b抗體結合於由另一CD79b抗體(亦即，CB3.1(BD Biosciences目錄號555678；San Jose, CA)、AT105-1(AbD Serotec目錄號MCA2208；Raleigh, NC)、AT107-2(AbD Serotec目錄號MCA2209)、抗-人類CD79b抗體(BD Biosciences目錄號557592；San Jose, CA)))所結合之CD79b上之同一抗原決定基。

在另一態樣中，本發明之CD79b抗體結合於CD79b上不同於由另一CD79b抗體結合之抗原決定基的抗原決定基。在另一實施例中，本發明之CD79b抗體結合於CD79b上不同於由自1993年7月20日寄存於ATCC之HB11413融合瘤產生之單株抗體、包含SEQ ID NO: 10(圖7A-B)及SEQ ID NO: 14(圖8A-B)之可變域之單株抗體或包含自1993年7月20日寄存於ATCC之HB11413融合瘤產生之抗體的可變域及來自IgG1之恆定域或包含SEQ ID NO: 10(圖7A-B)及SEQ ID NO: 14(圖8A-B)之序列之單株抗體的可變域之嵌合抗體之Fab片段所結合的抗原決定基之抗原決定基。在另一實施例中，本發明之CD79b抗體結合於CD79b上不同於由另一CD79b抗體(亦即，CB3.1(BD Biosciences目錄號555678；San Jose, CA)、AT105-1(AbD Serotec目錄號MCA2208；

Raleigh, NC)、AT107-2(AbD Serotec目錄號MCA2209)、抗-人類CD79b抗體(BD Biosciences目錄號557592；San Jose, CA))結合之CD79b上之抗原決定基的抗原決定基。

在另一態樣中，本發明之CD79b抗體不同於(亦即，其不為)自1993年7月20日以HB11413寄存於ATCC之融合瘤產生之單株抗體、包含SEQ ID NO: 10(圖7A-B)及SEQ ID NO: 14(圖8A-B)之可變域之單株抗體或包含自1993年7月20日以HB11413寄存於ATCC之融合瘤產生之抗體的可變域及來自IgG1之恆定域或包含SEQ ID NO: 10(圖7A-B)及SEQ ID NO: 14(圖8A-B)之序列之單株抗體的可變域之嵌合抗體之Fab片段。在另一實施例中，本發明之CD79b抗體不同於(亦即，其不為)另一CD79b抗體(亦即，CB3.1(BD Biosciences目錄號555678；San Jose, CA)、AT105-1(AbD Serotec目錄號MCA2208；Raleigh, NC)、AT107-2(AbD Serotec目錄號MCA2209)、抗-人類CD79b抗體(BD Biosciences目錄號557592；San Jose, CA))之Fab片段。

在一態樣中，本發明之抗體特異性結合於第一動物物種之CD79b，且並不特異性結合於第二動物物種之CD79b。在一實施例中，該第一動物物種為人類及/或靈長類(例如，獼猴)，且該第二動物物種為鼠類(例如，小鼠)及/或犬類。在一實施例中，第一動物物種為人類。在一實施例中，第一動物物種為靈長類，例如獼猴。在一實施例中，第二動物物種為鼠類，例如小鼠。在一實施例中，第二動物物種為犬類。

在一態樣中，本發明提供包含本發明之一或多種抗體及載劑之組合物。在一實施例中，該載劑為醫藥學上可接受的。

在一態樣中，本發明提供編碼本發明之CD79b抗體之核酸。

在一態樣中，本發明提供包含本發明之核酸之載體。

在一態樣中，本發明提供包含本發明之核酸或載體之宿主細

胞。載體可為任何類型，例如重組載體，諸如表現載體。可使用多種宿主細胞中之任一者。在一實施例中，宿主細胞為原核細胞，例如大腸桿菌。在一實施例中，宿主細胞為真核細胞，例如哺乳動物細胞，諸如中國倉鼠卵巢(CHO)細胞。

在一態樣中，本發明提供製造本發明之抗體之方法。舉例而言，本發明提供一種製造CD79b抗體(如本文所定義，其包括全長及其片段)之方法，該方法包含使本發明之編碼該抗體(或其片段)之重組載體表現於合適之宿主細胞中及回收該抗體。

在一態樣中，本發明提供一種製品，其包含一容器；及含於該容器中之組合物，其中該組合物包含本發明之一或多種CD79b抗體。在一實施例中，該組合物包含本發明之核酸。在一實施例中，包含抗體之組合物進一步包含載劑，在一些實施例中其為醫藥學上可接受的。在一實施例中，本發明之製品進一步包含關於向個體投與組合物(例如抗體)之說明書。

在一態樣中，本發明提供一種套組，其包含一第一容器，其包含含有本發明之一或多種CD79b抗體之組合物；及一第二容器，其包含緩衝劑。在一實施例中，該緩衝劑為醫藥學上可接受的。在一實施例中，包含拮抗劑抗體之組合物進一步包含載劑，在一些實施例中其為醫藥學上可接受的。在一實施例中，套組進一步包含關於向個體投與組合物(例如抗體)之說明書。

在一態樣中，本發明提供本發明之CD79b抗體用於製備用以治療性及/或預防性治療疾病(諸如癌症、腫瘤及/或細胞增生性病症)之藥劑的用途。在一實施例中，癌症、腫瘤及/或細胞增生性病症係選自淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、侵襲性NHL、復發性侵襲性NHL、復發性惰性NHL、難治性NHL、難治性惰性NHL、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、小淋巴細胞性淋巴瘤、白血病、毛細胞白血病

(HCL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)及套細胞淋巴瘤。

在一態樣中，本發明提供本發明之核酸用於製備用以治療性及/或預防性治療疾病(諸如癌症、腫瘤及/或細胞增生性病症)之藥劑的用途。在一實施例中，癌症、腫瘤及/或細胞增生性病症係選自淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、侵襲性NHL、復發性侵襲性NHL、復發性惰性NHL、難治性NHL、難治性惰性NHL、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、小淋巴細胞性淋巴瘤、白血病、毛細胞白血病(HCL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)及套細胞淋巴瘤。

在一態樣中，本發明提供本發明之表現載體用於製備用以治療性及/或預防性治療疾病(諸如癌症、腫瘤及/或細胞增生性病症)之藥劑的用途。在一實施例中，癌症、腫瘤及/或細胞增生性病症係選自淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、侵襲性NHL、復發性侵襲性NHL、復發性惰性NHL、難治性NHL、難治性惰性NHL、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、小淋巴細胞性淋巴瘤、白血病、毛細胞白血病(HCL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)及套細胞淋巴瘤。

在一態樣中，本發明提供本發明之宿主細胞用於製備用以治療性及/或預防性治療疾病(諸如癌症、腫瘤及/或細胞增生性病症)之藥劑的用途。在一實施例中，癌症、腫瘤及/或細胞增生性病症係選自淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、侵襲性NHL、復發性侵襲性NHL、復發性惰性NHL、難治性NHL、難治性惰性NHL、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、小淋巴細胞性淋巴瘤、白血病、毛細胞白血病(HCL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)及套細胞淋巴瘤。

在一態樣中，本發明提供本發明之製品用於製備用以治療性及/或預防性治療疾病(諸如癌症、腫瘤及/或細胞增生性病症)之藥劑的用途。在一實施例中，癌症、腫瘤及/或細胞增生性病症係選自淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、侵襲性NHL、復發性侵襲性NHL、復

發性惰性NHL、難治性NHL、難治性惰性NHL、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、小淋巴細胞性淋巴瘤、白血病、毛細胞白血病(HCL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)及套細胞淋巴瘤。

在一態樣中，本發明提供本發明之套組用於製備用以治療性及/或預防性治療疾病(諸如癌症、腫瘤及/或細胞增生性病症)之藥劑的用途。在一實施例中，癌症、腫瘤及/或細胞增生性病症係選自淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、侵襲性NHL、復發性侵襲性NHL、復發性惰性NHL、難治性NHL、難治性惰性NHL、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、小淋巴細胞性淋巴瘤、白血病、毛細胞白血病(HCL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)及套細胞淋巴瘤。

在一態樣中，本發明提供一種抑制表現CD79b之細胞生長之方法，該方法包含使該細胞與本發明之抗體接觸，藉此使得該細胞之生長受到抑制。在一實施例中，該抗體與細胞毒性劑共軛。在一實施例中，該抗體與生長抑制劑共軛。

在一態樣中，本發明提供一種治療性治療具有包含表現CD79b之細胞之癌性腫瘤的哺乳動物之方法，該方法包含向該哺乳動物投與治療有效量之本發明之抗體，藉此有效治療該哺乳動物。在一實施例中，該抗體與細胞毒性劑共軛。在一實施例中，該抗體與生長抑制劑共軛。

在一態樣中，本發明提供一種治療或預防與CD79b之表現增加相關之細胞增生性病症的方法，該方法包含向需要該治療之個體投與有效量之本發明之抗體，藉此有效治療或預防該細胞增生性病症。在一實施例中，該增生性病症為癌症。在一實施例中，該抗體與細胞毒性劑共軛。在一實施例中，該抗體與生長抑制劑共軛。

在一態樣中，本發明提供一種抑制細胞生長之方法，其中該細胞之生長至少部分視CD79b之生長增強作用而定，該方法包含使該細

胞與有效量之本發明之抗體接觸，藉此抑制該細胞之生長。在一實施例中，該抗體與細胞毒性劑共軛。在一實施例中，該抗體與生長抑制劑共軛。

在一態樣中，本發明提供一種治療性治療哺乳動物之腫瘤之方法，其中該腫瘤之生長至少部分視CD79b之生長增強作用而定，該方法包含使該細胞與有效量之本發明之抗體接觸，藉此有效治療該腫瘤。在一實施例中，該抗體與細胞毒性劑共軛。在一實施例中，該抗體與生長抑制劑共軛。

在一態樣中，本發明提供一種治療癌症之方法，其包含向患者投與包含本文所述之免疫共軛物、可接受之稀釋劑、載劑或賦形劑之醫藥調配物。在一實施例中，該癌症係選自淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、侵襲性NHL、復發性侵襲性NHL、復發性惰性NHL、難治性NHL、難治性惰性NHL、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、小淋巴細胞性淋巴瘤、白血病、毛細胞白血病(HCL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)及套細胞淋巴瘤。在一實施例中，投與患者細胞毒性劑與抗體-藥物共軛物化合物之組合。

在一態樣中，本發明提供一種抑制B細胞增生之方法，其包含使細胞在容許免疫共軛物與CD79b結合之條件下暴露於包含本發明之抗體之免疫共軛物。在一實施例中，該B細胞增生係選自淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、侵襲性NHL、復發性侵襲性NHL、復發性惰性NHL、難治性NHL、難治性惰性NHL、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、小淋巴細胞性淋巴瘤、白血病、毛細胞白血病(HCL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)及套細胞淋巴瘤。在一實施例中，B細胞為異種移植物。在一實施例中，該暴露在活體外進行。在一實施例中，該暴露在活體內進行。

在一態樣中，本發明提供一種測定懷疑含有CD79b之樣品中

CD79b之存在的方法，該方法包含使該樣品暴露於本發明之抗體，及測定該抗體與該樣品中之CD79b之結合，其中該抗體與該樣品中之CD79b之結合指示該樣品中存在該蛋白質。在一實施例中，該樣品為生物樣品。在另一實施例中，該生物樣品包含B細胞。在一實施例中，生物樣品係來自經歷或懷疑經歷B細胞病症及/或B細胞增生性病症之哺乳動物，該病症包括(但不限於)淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、侵襲性NHL、復發性侵襲性NHL、復發性惰性NHL、難治性NHL、難治性惰性NHL、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、小淋巴細胞性淋巴瘤、白血病、毛細胞白血病(HCL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)及套細胞淋巴瘤。

在一態樣中，提供一種診斷與表現CD79b之細胞(諸如B細胞)增加相關之細胞增生性病症的方法，該方法包含使生物樣品中之測試細胞與上述抗體中之任一者接觸；藉由偵測該抗體與CD79b之結合來測定結合於該樣品中之測試細胞的抗體之含量；及比較結合於對照樣品中之細胞的抗體之含量，其中將所結合之抗體之含量標準化為測試樣品及對照樣品中表現CD79b之細胞之數目，且其中與對照樣品相比測試樣品中結合之抗體的含量較高指示與表現CD79b之細胞相關之細胞增生性病症的存在。

在一態樣中，本發明提供一種偵測血液或血清中之可溶性CD79b之方法，該方法包含使來自懷疑經歷B細胞增生性病症之哺乳動物之血液或血清的測試樣品與本發明之抗-CD79b抗體接觸且偵測測試樣品中之可溶性CD79b相對於來自正常哺乳動物之血液或血清之對照樣品的增加。在一實施例中，該偵測方法適用作診斷與哺乳動物之血液或血清中之可溶性CD79b增加相關的B細胞增生性病症之方法。

在一態樣中，本發明提供一種使本發明之抗體結合於表現CD79b之細胞的方法，該方法包含使該細胞與本發明之抗體接觸。在一實施

例中，該抗體與細胞毒性劑共軛。在一實施例中，該抗體與生長抑制劑共軛。

本發明之方法可用於影響任何合適之病理狀態，例如與CD79b表現相關之細胞及/或組織。在一實施例中，本發明之方法中所靶向之細胞為造血細胞。舉例而言，造血細胞可為選自由淋巴細胞、白血球、血小板、紅血球及自然殺手細胞組成之群之一者。在一實施例中，本發明之方法中所靶向之細胞為B細胞或T細胞。在一實施例中，本發明之方法中所靶向之細胞為癌細胞。舉例而言，癌細胞可為選自由淋巴瘤細胞、白血病細胞或骨髓瘤細胞組成之群之一者。

本發明之方法可進一步包含其他治療步驟。舉例而言，在一實施例中，方法進一步包含使靶細胞及/或組織(例如癌細胞)暴露於放射治療或化學治療劑之步驟。

如本文所述，CD79b為B細胞受體之信號轉導組分。因此，在本發明之方法之一實施例中，所靶向之細胞(例如癌細胞)為與不表現CD79b之細胞相比較表現CD79b之細胞。在另一實施例中，靶向之細胞為與相同組織類型之正常非癌細胞相比CD79b表現增強之癌細胞。在一實施例中，本發明之方法引起靶向之細胞死亡。

在本發明之其他態樣中，本發明提供包含編碼本文中所述之抗體中之任一者的DNA之載體。亦提供包含任何此類載體之宿主細胞。舉例而言，該宿主細胞可為CHO細胞、大腸桿菌細胞或酵母細胞。進一步提供一種製造本文中所述之抗體中之任一者的方法且該方法包含在適合於表現所需抗體之條件下培養宿主細胞及自細胞培養物回收所需抗體。

在又一態樣中，本發明係關於一種包含如本文所述之抗-CD79b抗體與載劑之組合的物質組合物。視情況，該載劑為醫藥學上可接受之載劑。

本發明之另一態樣係針對如本文所述之抗-CD79b多肽抗體用於製備適用於治療對該抗-CD79b多肽抗體起反應之病狀之藥劑的用途。

本發明之另一態樣為一種包含式I之抗體-藥物化合物之混合物的組合物，其中平均每抗體藥物負荷為約2至約5，或約3至約4。

本發明之另一態樣為一種醫藥組合物，其包括式I ADC化合物、式I ADC化合物之混合物或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物，及醫藥學上可接受之稀釋劑、載劑或賦形劑。

另一態樣提供一種醫藥組合，其包含式I ADC化合物及具有抗癌特性或其他治療效應之第二化合物。

另一態樣為一種殺死腫瘤細胞或癌細胞或抑制腫瘤細胞或癌細胞增生之方法，其包含用適量可有效殺死該等腫瘤細胞或癌細胞或抑制該等腫瘤細胞或癌細胞增生的式I之抗體-藥物共軛物或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物處理該等細胞。

另一態樣為一種治療癌症之方法，其包含向患者投與治療有效量之包括式I ADC之醫藥組合物。

另一態樣包括製品，亦即套組，其包含抗體-藥物共軛物、容器及指示治療之包裝插頁或標籤。

本發明之一態樣為一種製造式I抗體藥物共軛物化合物之方法，其包含下列步驟：(a)使半胱胺酸工程化抗體之工程化半胱胺酸基團與連接子試劑反應以形成抗體-連接子中間物Ab-L；及(b)使Ab-L與活化藥物部分D反應；藉此形成該抗體-藥物共軛物；或包含下列步驟：(c)使藥物部分之親核性基團與連接子試劑反應以形成藥物-連接子中間物D-L；及(d)使D-L與半胱胺酸工程化抗體之工程化半胱胺酸基團反應；藉此形成該抗體-藥物共軛物。

本發明之一態樣為一種偵測癌細胞之檢定，其包含：(a)使細胞

暴露於半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體-藥物共軛物；及(b)測定該半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體-藥物共軛物化合物與該等細胞之結合程度。

A.抗-CD79b抗體

在一實施例中，本發明提供可在本文中用作治療劑之抗-CD79b抗體。例示性抗體包括多株抗體、單株抗體、人類化抗體、雙特異性抗體及異質共軛物抗體。

1.多株抗體

多株抗體較佳係藉由多次皮下(sc)或腹膜內(ip)注射相關抗原及佐劑而在動物體內產生。其可適用於使相關抗原(尤其當使用合成肽時)與在待免疫之物種體內具免疫原性之蛋白質共軛。舉例而言，可使用雙官能試劑或衍生試劑使抗原與匙孔螺血藍蛋白(KLH)、血清白蛋白、牛甲狀腺球蛋白或大豆胰蛋白酶抑制劑共軛，該等試劑例如為順丁烯二醯亞胺苄醯基磺基丁二醯亞胺酯(經由半胱胺酸殘基共軛)、N-羥基丁二醯亞胺(經由離胺酸殘基)、戊二醛、丁二酸酐、$SOCl_2$或$R^1N=C=NR$，其中R及R^1為不同烷基。

藉由組合例如100 μg或5 μg蛋白質或共軛物(分別針對兔子或小鼠)與3體積之弗氏不完全佐劑(Freund's complete adjuvant)且於多個部位經皮注射溶液使動物對抗原、免疫原性共軛物或衍生物免疫。一個月後，藉由於多個部位皮下注射以1/5至1/10初始量之於弗氏不完全佐劑中之肽或共軛物使動物加強免疫。7至14天後，給動物放血且檢定血清之抗體效價。使動物加強免疫直至效價平台期。共軛物亦可在重組細胞培養物中以蛋白質融合物形式產生。又，適當地使用諸如明礬之聚集劑來增強免疫反應。

2.單株抗體

單株抗體可使用最初由Kohler等人，**Nature**, 256:495 (1975)描述

之融合瘤方法來製造，或可藉由重組DNA方法來製造(美國專利第4,816,567號)。

在融合瘤方法中，如上文所述使小鼠或其他適當宿主動物(諸如倉鼠)免疫以激發產生或能夠產生將特異性結合於用於免疫之蛋白質之抗體的淋巴細胞。或者，可在活體外使淋巴細胞免疫。免疫後，將淋巴細胞分離且接著使用合適之融合劑(諸如聚乙二醇)與骨髓瘤細胞株融合以形成融合瘤細胞(Goding, **Monoclonal Antibodies: Principles and Practice**，第59-103頁(Academic Press, 1986))。

將由此製備之融合瘤細胞接種且使之生長於合適之培養基中，該培養基較佳含有一或多種可抑制未融合之親本骨髓瘤細胞(亦稱為融合搭配物)之生長或存活的物質。舉例而言，若親本骨髓瘤細胞缺乏酶次黃嘌呤鳥嘌呤磷酸核糖基轉移酶(HGPRT或HPRT)，則融合瘤之選擇性培養基通常將包括次黃嘌啉、胺基喋呤及胸苷(HAT介質)，該等物質防止缺乏HGPRT之細胞生長。

較佳融合搭配物骨髓瘤細胞為有效融合、支持所選的產生抗體之細胞穩定高量產生抗體且對針對未融合之親本細胞所選擇之選擇性培養基敏感的彼等者。較佳骨髓瘤細胞株為鼠類骨髓瘤細胞株，諸如源自可得自沙克研究所細胞分配中心(Salk Institute Cell Distribution Center)(San Diego, California USA)之MOPC-21及MPC-11小鼠腫瘤以及可得自美國菌種保藏中心(Manassas, Virginia, USA)之SP-2及衍生物(例如X63-Ag8-653細胞)的彼等者。亦已關於產生人類單株抗體描述了人類骨髓瘤及小鼠-人類雜骨髓瘤細胞株(Kozbor, **J. Immunol.**, 133:3001 (1984)；及Brodeur等人，**Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications**，第51-63頁(Marcel Dekker, Inc., New York, 1987))。

檢定內部生長融合瘤細胞之培養基的針對抗原之單株抗體的產

生。較佳地，藉由免疫沈澱或藉由諸如放射免疫檢定(RIA)或酶聯免疫吸附檢定(ELISA)之活體外結合檢定來測定由融合瘤細胞產生之單株抗體之結合特異性。

單株抗體之結合親和力可例如藉由Munson等人，Anal. Biochem., 107:220 (1980)中所述之史卡查分析(Scatchard analysis)來測定。

鑑別出產生具所需特異性、親和力及/或活性之抗體之融合瘤細胞後，可藉由限制稀釋程序對純系進行次選殖且藉由標準方法使其生長(Goding, **Monoclonal Antibodies: Principles and Practice**，第59-103頁(Academic Press, 1986))。出於此目的，合適之培養基包括(例如)D-MEM或RPMI-1640培養基。另外，融合瘤細胞可作為腹水腫瘤生長於動物活體內，例如藉由將細胞腹膜內注射至小鼠體內來達成。

藉由諸如親和層析(例如使用蛋白質A或蛋白質G-瓊脂糖)或離子交換層析、羥磷灰石層析、凝膠電泳、透析等之習知抗體純化程序，將由次純系分泌之單株抗體適當地自培養基、腹水流體或血清分離。

使用習知程序(例如，藉由使用能夠特異性結合於編碼鼠類抗體之重鏈及輕鏈之基因的寡核苷酸探針)來容易地將編碼單株抗體之DNA分離及定序。融合瘤細胞用作該DNA之較佳來源。在分離後，可將DNA置於表現載體中，接著將其轉染至諸如大腸桿菌細胞、猿COS細胞、中國倉鼠卵巢(CHO)細胞或骨髓瘤細胞之不以其他方式產生抗體蛋白之宿主細胞中，以獲得單株抗體在重組宿主細胞中之合成。關於編碼抗體之DNA在細菌中之重組表現的評述文章包括Skerra等人，**Curr. Opinion in Immunol.**, 5:256-262 (1993)及Plückthun, **Immunol. Revs.** 130:151-188 (1992)。

在另一實施例中，單株抗體或抗體片段可自使用McCafferty等人，**Nature**, 348:552-554 (1990)中所述之技術產生之抗體噬菌體庫分離。Clackson等人，**Nature**, 352:624-628 (1991)及Marks等人，**J. Mol.**

Biol., 222:581-597 (1991)分別描述使用噬菌體庫分離鼠類及人類抗體。後續公開案描述藉由鏈改組(Marks等人，**Bio/Technology**, 10:779-783 (1992))以及組合感染及活體內再組合作為建構極大噬菌體庫之策略(Waterhouse等人，**Nuc. Acids. Res.** 21:2265-2266 (1993))來產生高親和力(nM範圍)人類抗體。因此，此等技術為用於分離單株抗體之傳統單株抗體融合瘤技術之可行替代者。

可修飾編碼抗體之DNA以產生嵌合或融合抗體多肽，例如藉由用人類重鏈及輕鏈恆定域(C_H及C_L)取代同源鼠類序列(美國專利第4,816,567號；及Morrison,等人，**Proc. Natl Acad. Sci. USA**, 81:6851 (1984))，或藉由使免疫球蛋白編碼序列與非免疫球蛋白多肽(異源多肽)之編碼序列之全部或部分融合來達成。非免疫球蛋白多肽序列可取代抗體之恆定域，或用其取代抗體之一個抗原結合位點之可變域以形成包含一個對一抗原具有特異性之抗原結合位點及另一個對不同抗原具有特異性之抗原結合位點的嵌合二價抗體。

3.**人類抗體及人類化抗體**

本發明之抗-CD79b抗體可進一步包含人類化抗體或人類抗體。非人類(例如鼠類)抗體之人類化形式為含有源自非人類免疫球蛋白之最小序列的嵌合免疫球蛋白、其免疫球蛋白鏈或片段(諸如Fv、Fab、$F(ab')_2$或抗體之其他抗原結合子序列)。人類化抗體包括人類免疫球蛋白(受體抗體)，其中來自受體之互補判定區(CDR)之殘基由來自諸如小鼠、大鼠或兔子之非人類物種(供體抗體)之CDR且具有所需特異性、親和力及能力的殘基置換。在一些情況下，人類免疫球蛋白之Fv構架殘基由相應非人類殘基置換。人類化抗體亦可包含既不見於受體抗體中亦不見於所輸入CDR或構架序列中之殘基。一般而言，人類化抗體將包含至少一個且通常兩個可變域之大體上全部，其中所有或大體上所有CDR區對應於非人類免疫球蛋白之彼等者且所有或大體上所

有FR區為人類免疫球蛋白一致序列之彼等者。人類化抗體最佳亦將包含免疫球蛋白恆定區(Fc)之至少一部分，通常為人類免疫球蛋白之至少一部分[Jones等人，**Nature**, **321**:522-525 (1986)；Riechmann等人，**Nature**, **332**:323-329 (1988)；及Presta, **Curr. Op. Struct. Biol.**, **2**:593-596 (1992)]。

人類化非人類抗體之方法在此項技術中係熟知的。一般而言，人類化抗體具有一或多個自非人類來源引入其中之胺基酸殘基。此等非人類胺基酸殘基常常被稱為"輸入"殘基，其通常取自"輸入"可變域。人類化可基本上按照Winter及同事之方法[Jones等人，**Nature**, **321**:522-525 (1986)；Riechmann等人，**Nature**, **332**:323-327 (1988)；Verhoeyen等人，**Science**, **239**:1534-1536 (1988)]，藉由用齧齒類CDR或CDR序列取代人類抗體之相應序列來執行。因此，該等"人類化"抗體為嵌合抗體(美國專利第4,816,567號)，其中大體上不及完整人類可變域已由來自非人類物種之相應序列取代。實際上，人類化抗體通常為一些CDR殘基及可能一些FR殘基由來自齧齒類抗體中之類似位點之殘基取代的人類抗體。

當抗體意欲用於人類治療用途時，對欲用於製備人類化抗體之人類可變域(輕鏈及重鏈)之選擇對於降低抗原性及哈馬反應(人類抗-小鼠抗體)極為重要。降低或消除哈馬反應為合適之治療劑之臨床發展的重要態樣。參見(例如)Khaxzaeli等人，J. Natl. Cancer Inst. (1988), 80:937；Jaffers等人，Transplantation (1986), 41:572；Shawler等人，J. Immunol. (1985), 135:1530；Sears等人，J. Biol. Response Mod. (1984), 3:138；Miller等人，Blood (1983), 62:988；Hakimi等人，J. Immunol. (1991), 147:1352；Reichmann等人，Nature (1988), 332:323；Junghans等人，Cancer Res. (1990), 50:1495。如本文所述，本發明提供經人類化以便降低或消除哈馬反應之抗體。使用此項技術

中已知之常規方法可進一步獲得此等抗體之變異體，其中一些在下文作進一步描述。根據所謂"最合適"方法，針對整個已知人類可變域序列庫篩選齧齒類抗體之可變域之序列。鑑別出最接近齧齒類之人類V域序列且接受其中之人類構架區(FR)用於人類化抗體(Sims等人，**J. Immunol.** 151:2296 (1993)；Chothia等人，**J. Mol. Biol.**, 196:901 (1987))。另一方法使用源自輕鏈或重鏈之特定亞群之所有人類抗體的一致序列之特定構架區。對於若干不同人類化抗體可使用相同構架(Carter等人，**Proc. Natl. Acad. Sci._USA**, 89:4285 (1992)；Presta等人，**J. Immunol.** 151:2623 (1993))。

舉例而言，來自如本文所述之抗體之胺基酸序列可用作使構架及/或高變序列多樣化之起始(親本)序列。起始高變序列所連接之所選構架序列在本文中被稱為受體人類構架。雖然受體人類構架可來自或源自人類免疫球蛋白(其VL及/或VH區域)，但較佳地為受體人類構架來自或源自人類一致構架序列，此係因為已顯示該等構架在人類患者體內具有最小免疫原性或無免疫原性。

在受體源自人類免疫球蛋白時，吾人可視情況選擇基於與供體構架序列之同源性藉由比對供體構架序列與人類構架序列集合中之各種人類構架序列來選擇的人類構架序列，且選擇與受體最同源之構架序列。

在一實施例中，本文中之人類一致構架來自或源自VH亞群III及/或VL κ亞群I一致構架序列。

因此，VH受體人類構架可包含下列構架序列中之一個、兩個、三個或全部：

包含EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS之FR1(SEQ ID NO: 143)；

包含WVRQAPGKGLEWV之FR2(SEQ ID NO: 144)；

包含RFTISX1DX2SKNTX3YLQMNSLRAEDTAVYYC之FR3(SEQ ID

NO: 147)，其中X_1為A或R，X_2為T或N，且X_3為A或L；

包含WGQGTLVTVSS之FR4(SEQ ID NO: 146)。

VH一致構架之實例包括：

缺失Kabat CDR之人類VH亞群I一致構架(SEQ ID NO: 108)；

缺失延伸高變區之人類VH亞群I一致構架(SEQ ID NO: 109-111)；

缺失Kabat CDR之人類VH亞群II一致構架(SEQ ID NO: 112)；

缺失延伸高變區之人類VH亞群II一致構架(SEQ ID NO: 113-115)；

缺失Kabat CDR之人類VH亞群III一致構架(SEQ ID NO: 116)；

缺失延伸高變區之人類VH亞群III一致構架(SEQ ID NO: 117-119)；

缺失Kabat CDR之人類VH受體構架(SEQ ID NO: 120)；

缺失延伸高變區之人類VH受體構架(SEQ ID NO: 121-122)；

缺失Kabat CDR之人類VH受體2構架(SEQ ID NO: 123)；或

缺失延伸高變區之人類VH受體2構架(SEQ ID NO: 124-126)。

在一實施例中，VH受體人類構架包含下列構架序列中之一個、兩個、三個或全部：

包含EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS之FR1(SEQ ID NO: 143)；

包含WVRQAPGKGLEWV之FR2(SEQ ID NO: 144)；

包含RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYC(SEQ ID NO: 145)、RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCA (SEQ ID NO: 148)、RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 149)、RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCS (SEQ ID NO: 150)或RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSR (SEQ ID NO: 151)之FR3；

包含WGQGTLVTVSS(SEQ ID NO: 146)之FR4。

VL受體人類構架可包含下列構架序列中之一個、兩個、三個或全部：

包含DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC之FR1(SEQ ID NO: 139)；

包含WYQQKPGKAPKLLIY之FR2(SEQ ID NO: 140)；

包含GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC之FR3 (SEQ ID NO: 141)；

包含FGQGTKVEIKR之FR4(SEQ ID NO: 142)。

VL一致構架之實例包括：

人類VL κ亞群I一致構架(SEQ ID NO: 127)；

人類VL κ亞群II一致構架(SEQ ID NO: 128)；

人類VL κ亞群III一致構架(SEQ ID NO: 129)；或

人類VL κ亞群IV一致構架(SEQ ID NO: 130)。

雖然受體之序列可與無論來自人類免疫球蛋白抑或人類一致構架之所選人類構架序列一致，但本發明涵蓋受體序列可包含相對於人類免疫球蛋白序列或人類一致構架序列預先存在之胺基酸取代。此等預先存在之取代較佳為極少；相對於人類免疫球蛋白序列或一致構架序列通常僅四個、三個、兩個或一個胺基酸差別。

將非人類抗體之高變區殘基併入VL及/或VH受體人類構架中。舉例而言，吾人可併入對應於Kabat CDR殘基、Chothia高變環殘基、Abm殘基及/或接觸殘基之殘基。視情況，併有如下延伸高變區殘基：24-34(L1)、50-56(L2)及89-97(L3)、26-35B(H1)、50-65、47-65或49-65(H2)及93-102、94-102或95-102(H3)。

雖然本文中論述高變區殘基之"合併"，但應瞭解此可以多種方式達成，例如編碼所需胺基酸序列之核酸可藉由使編碼小鼠可變域序列之核酸突變以便使其構架殘基變為受體人類構架殘基，或藉由使編碼人類可變域序列之核酸突變以便使高變域殘基變為非人類殘基，或藉由合成編碼所需序列之核酸等而產生。

在本文實例中，對各高變區使用獨立寡核苷酸藉由編碼人類受

體序列之核酸之Kunkel突變誘發來產生高變區接枝變異體。Kunkel等人，*Methods Enzymol.* 154:367-382 (1987)。可使用常規技術將適當變化引入構架及/或高變區中以修正及重建適當高變區-抗原相互作用。

噬菌體(噬粒)呈現(在一些情況下本文中亦稱為噬菌體呈現)可用作用於產生由序列隨機化產生之庫中之許多不同潛在變異抗體及對該等不同潛在變異抗體進行篩選的便利及快速之方法。然而，製造及篩選經改變之抗體之其他方法可為熟習此項技術者所利用。

噬菌體(噬粒)呈現技術提供一種用於產生結合於配位體(諸如抗原)之新穎蛋白質及對該等蛋白質進行選擇的有效工具。噬菌體(噬粒)呈現技術之使用允許產生大蛋白質變異體庫，可快速針對以高親和力結合於靶分子之彼等序列對該等庫進行分選。編碼變異多肽之核酸一般與編碼病毒外殼蛋白(諸如基因III蛋白或基因VIII蛋白)之核酸序列融合。已開發出其中編碼蛋白質或多肽之核酸序列與編碼基因III蛋白之一部分之核酸序列融合的單價噬粒呈現系統。(Bass, S., *Proteins*, 8:309 (1990); Lowman及Wells, *Methods: A Companion to Methods in Enzymology*, 3:205 (1991))。在單價噬粒呈現系統中，以低量表現基因融合且亦表現野生型基因III蛋白以便保留顆粒之感染性。產生肽庫及篩選彼等庫之方法已在許多專利(例如美國專利第5,723,286號、美國專利第5,432,018號、美國專利第5,580,717號、美國專利第5,427,908號及美國專利第5,498,530號)中有揭示。

已以許多方式製備抗體或抗原結合多肽之庫，包括藉由經由插入隨機DNA序列改變單一基因或藉由選殖相關基因家族來進行。使用噬菌體(噬粒)呈現來呈現抗體或抗原結合片段之方法已於美國專利第5,750,373號、第5,733,743號、第5,837,242號、第5,969,108號、第6,172,197號、第5,580,717號及第5,658,727號中描述。隨後針對具有所需特徵之抗體或抗原結合蛋白之表現來對庫進行篩選。

將所選之胺基酸取代至模板核酸中之方法在此項技術中為充分確立的，其中一些在本文中有描述。舉例而言，高變區殘基可使用Kunkel方法取代。參見(例如)Kunkel等人，*Methods Enzymol.* 154:367-382 (1987)。

寡核苷酸之序列包括為待改變之高變區殘基所設計之密碼子組中的一或多者。密碼子組為一組用於編碼所需變異胺基酸之不同核苷酸三聯體序列。密碼子組可使用表示特定核苷酸或核苷酸之等莫耳混合物之符號來表示，如下文根據IUB代碼所示。

IUB代碼

G鳥嘌呤

A腺嘌呤

T胸腺嘧啶

C胞嘧啶

R(A或G)

Y(C或T)

M(A或C)

K(G或T)

S(C或G)

W(A或T)

H(A或C或T)

B(C或G或T)

V(A或C或G)

D(A或G或T)H

N(A或C或G或T)

舉例而言，在密碼子組DVK中，D可為核苷酸A或G或T；V可為A或G或C；且K可為G或T。此密碼子組可提供18種不同密碼子且可編

碼胺基酸Ala、Trp、Tyr、Lys、Thr、Asn、Lys、Ser、Arg、Asp、Glu、Gly及Cys。

寡核苷酸或引子組可使用標準方法合成。一組寡核苷酸可例如藉由固相合成來合成，其含有表示由密碼子組提供之核苷酸三聯體之所有可能組合及將編碼所需胺基酸組的序列。於某些位置處具有所選核苷酸"簡併"之寡核苷酸的合成在此項技術中係熟知的。該等具有某些密碼子組之核苷酸組可使用商業核酸合成器(例如可得自Applied Biosystems, Foster City, CA)來合成，或可自商業來源獲得(例如得自Life Technologies, Rockville, MD)。因此，所合成的具有特定密碼子組之一組寡核苷酸通常將包括複數個具有不同序列之寡核苷酸，該等差異由整個序列內之密碼子組產生。如根據本發明所使用之寡核苷酸具有允許與可變域核酸模板雜交且亦可包括用於選殖目的之限制性酶位點的序列。

在一種方法中，編碼變異胺基酸之核酸序列可藉由寡核苷酸介導之突變誘發來形成。此技術在此項技術中係熟知的，如Zoller等人*Nucleic Acids Res.* 10:6487-6504(1987)所述。簡言之，編碼變異胺基酸之核酸序列係藉由使編碼所需密碼子組之寡核苷酸組與DNA模板雜交來形成，其中該模板為含有可變區核酸模板序列之單股形式之質體。雜交後，使用DNA聚合酶合成模板之整個第二互補股，此將由此合併寡核苷酸引子，且將含有如由寡核苷酸組所提供之密碼子組。

一般而言，使用長度為至少25個核苷酸之寡核苷酸。最佳寡核苷酸將具有12至15個與模板在編碼突變之核苷酸之任一側完全互補的核苷酸。此確保寡核苷酸將適當地與單股DNA模板分子雜交。寡核苷酸容易使用此項技術中已知之技術合成，諸如Crea等人，*Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA*, 75:5765 (1978)所述之技術。

DNA模板係由源自噬菌體M13載體(市售M13mp18及M13mp19載

體為合適的)之彼等載體或含有單股噬菌體複製起點之彼等載體(如Viera等人，*Meth. Enzymol.*, 153:3 (1987)所述)產生。因此，可將待突變之DNA插入此等載體之一者中以產生單股模板。單股模板之產生在Sambrook等人(上文)之4.21-4.41章節中有描述。

為改變天然DNA序列，在合適之雜交條件下使寡核苷酸與單股模板雜交。接著添加通常為T7 DNA聚合酶之DNA聚合酶或DNA聚合酶I之Klenow片段以使用寡核苷酸作為合成引子來合成模板之互補股。由此形成異源雙鏈體分子以便使DNA之一股編碼基因1之突變形式，且另一股(原始模板)編碼基因1之天然、未改變序列。接著將此異源雙鏈體分子轉型至合適之宿主細胞中，通常為原核生物，諸如大腸桿菌JM101。使細胞生長後，將其塗於瓊脂糖板上且使用經32-磷酸鹽放射性標記之寡核苷酸引子進行篩選以鑑別含有突變DNA之細菌群落。

上文剛剛所述之方法可加以修改以便形成如下同源雙鏈體分子，其中兩股質體皆含有突變。修改如下：使單股寡核苷酸與如上文所述之單股模板一起退火。將三種脫氧核糖核苷酸(亦即脫氧核糖腺苷(dATP)、脫氧核糖鳥苷(dGTP)及脫氧核糖胸苷(dTT))之混合物與稱為dCTP-(aS)之經修飾之硫代脫氧核糖胞嘧啶(其可自Amersham獲得)組合。將此混合物添加至模板-寡核苷酸複合物中。將DNA聚合酶添加至此混合物中後，產生除突變鹼基外與模板一致之一股DNA。另外，此新股DNA將含有dCTP-(aS)而非dCTP，該dCTP-(aS)用來保護DNA免於限制性核酸內切酶消化。用適當限制酶對雙股異源雙鏈體之模板股切割後，可用ExoIII核酸酶或另一適當核酸酶，越過含有待誘發突變之位點之區域消化該模板股。接著停止反應以留下僅部分為單股之分子。接著在所有四種脫氧核糖核苷酸三磷酸鹽、ATP及DNA連接酶存在下使用DNA聚合酶形成完整雙股DNA同源雙鏈體。接著可

將此同源雙鏈體分子轉型至合適之宿主細胞中。

如先前所指示，寡核苷酸組之序列具有足以與模板核酸雜交之長度，且亦可(但並非必定)含有限制性位點。DNA模板可由源自噬菌體M13載體或含有單股噬菌體複製起點之載體(如Viera等人，*Meth. Enzymol.*, 153:3 (1987)所述)的彼等載體產生。因此，必須將待突變之DNA插入此等載體之一者中以產生單股模板。單股模板之產生在Sambrook等人(見上)之4.21-4.41章節中有描述。

根據另一方法，抗原結合可在抗體人類化期間經由選擇修復高變區來恢復(參見2005年2月18日申請之申請案第11/061,841號)。該方法包括將非人類高變區併於受體構架上且進一步將一或多個胺基酸取代引入一或多個高變區中而不修飾受體構架序列。或者，一或多個胺基酸取代之引入可伴有受體構架序列之修飾。

根據另一方法，可藉由提供上游及下游寡核苷酸組來產生庫，各組具有複數個具有不同序列之寡核苷酸，該等不同序列由寡核苷酸序列內提供之密碼子組所建立。上游及下游寡核苷酸組以及可變域模板核酸序列可用於聚合酶鏈反應中以產生PCR產物之"庫"。PCR產物可稱為"核酸盒"，此係因為可使用已確立之分子生物學技術將其與其他相關或無關核酸序列(例如病毒外殼蛋白及二聚化結構域)融合。

PCR引子之序列包括為高變區中溶劑可接近且高度不同之位置所設計之密碼子組中之一或多者。如上文所述，密碼子組為一組用於編碼所需變異胺基酸之不同核苷酸三聯體序列。

可使用標準重組技術將如經由適當篩選/選擇步驟所選之符合所需標準之抗體選擇物分離及選殖。

更為重要的是將抗體人類化但保留對抗原之高結合親和力及其他有利生物學特性。為達成此目標，根據較佳方法，藉由使用親本及人類化序列之三維模型分析親本序列及各種概念性人類化產物之方法

來製備人類化抗體。三維免疫球蛋白模型通常為可利用的且為熟習此項技術者所熟悉。可利用電腦程式，其例示且展現所選候選免疫球蛋白序列之可能三維構形結構。對此等展現之檢查允許分析殘基在候選免疫球蛋白序列起作用時之可能作用，亦即分析影響候選免疫球蛋白結合其抗原之能力之殘基。以此方式，可自受體及輸入序列選擇FR殘基且加以組合以便獲得所需抗體特徵(諸如對靶抗原之親和力增加)。一般而言，高變區殘基直接且大多數大體上涉及影響抗原結合。

本發明涵蓋各種形式之人類化抗-CD79b抗體。舉例而言，人類化抗體可為抗體片段，諸如Fab，其視情況與一或多種細胞毒性劑共軛以產生免疫共軛物。或者，人類化抗體可為完整抗體，諸如完整IgG1抗體。

作為人類化之替代，可產生人類抗體。舉例而言，現在有可能產生轉殖基因動物(例如小鼠)，其在免疫後能夠在不產生內源性免疫球蛋白之情況下產生人類抗體之完整譜系。舉例而言，已描述嵌合及生殖系突變小鼠體內之抗體重鏈連接區域(J_H)基因之純合性缺失導致內源性抗體產生受到完全抑制。人類生殖系免疫球蛋白基因陣列轉移至該等生殖系突變小鼠中將導致在抗原激發後產生人類抗體。參見例如，Jakobovits等人，**Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 90:2551 (1993)；Jakobovits等人，**Nature**, 362:255-258 (1993)；Bruggemann等人，**Year in Immuno.** 7:33 (1993)；美國專利第5,545,806號、第5,569,825號、第5,591,669號(均為GenPharm的)；第5,545,807號；及WO 97/17852。

或者，可使用噬菌體呈現技術(McCafferty等人，**Nature** 348:552-553 [1990])在活體外自未經免疫之供體之免疫球蛋白可變(V)域基因譜系產生人類抗體及抗體片段。根據此技術，將抗體V域基因同框選

殖至絲狀噬菌體(諸如M13或fd)之主要或次要外殼蛋白基因中，且作為功能性抗體片段呈現於噬菌體顆粒之表面上。因為絲狀顆粒含有噬菌體基因組之單股DNA複本，所以基於抗體之功能特性之選擇亦導致選擇編碼展現彼等特性之抗體之基因。因此，噬菌體模擬B細胞之一些特性。噬菌體呈現可以多種形式執行，此於(例如)Johnson, Kevin S.及Chiswell, David J., **Current Opinion in Structural Biology** 3:564-571 (1993)中有綜述。V基因區段之若干來源可用於噬菌體呈現。Clackson等人，**Nature**, 352:624-628 (1991)自源自經免疫之小鼠之脾的V基因之小隨機組合庫分離不同抗-噁唑酮抗體陣列。可建構未經免疫之人類供體之V基因的譜系且不同抗原(包括自體抗原)陣列之抗體可基本上按照Marks等人，**J. Mol. Biol.** 222:581-597 (1991)或Griffith等人，**EMBO J.** 12:725-734 (1993)所述之技術來分離。亦參見美國專利第5,565,332號及第5,573,905號。

如上文所討論，人類抗體亦可由活體外活化B細胞產生(參見美國專利5,567,610及5,229,275)。

4.抗體片段

在某些情況下，使用抗體片段而非完整抗體有益處。較小尺寸之片段允許快速清除，且可導致對實體腫瘤之接近得到改善。

已開發各種技術用於製造抗體片段。傳統上，此等片段係經由完整抗體之蛋白水解消化而得到(參見(例如)Morimoto等人，**Journal of Biochemical and Biophysical Methods** 24:107-117 (1992)；及Brennan等人，**Science**, 229:81 (1985))。然而，此等片段現在可直接由重組宿主細胞產生。Fab、Fv及ScFv抗體片段均可在大腸桿菌中表現且自其分泌，因此允許容易地製造大量此等片段。可將抗體片段自上文所論述之抗體噬菌體庫分離。或者，可直接自大腸桿菌回收Fab'-SH片段且使其化學偶合以形成$F(ab')_2$片段(Carter等人，

Bio/Technology 10:163-167 (1992))。根據另一方法，可直接自重組宿主細胞培養物分離$F(ab')_2$片段。包含補救受體結合抗原決定基殘基且活體內半衰期增加之Fab及$F(ab')_2$片段係描述於美國專利第5,869,046號中。用於製造抗體片段之其他技術對於熟練從業者將顯而易見。在其他實施例中，所選抗體為單鏈Fv片段(scFv)。參見WO 93/16185；美國專利第5,571,894號；及美國專利第5,587,458號。Fv及sFv為具有完整結合位點但無恆定區之僅有物質；因此，其適合於在活體內使用期間降低之非特異性結合。可建構sFv融合蛋白以獲得效應蛋白於sFv之胺基或羧基末端處之融合。參見**Antibody Engineering**, Borrebaeck編，見上。抗體片段亦可為"線性抗體"，例如美國專利5,641,870中所述。該等線性抗體片段可為單特異性或雙特異性抗體。

5.雙特異性抗體

雙特異性抗體為對至少兩個不同抗原決定基具有結合特異性之抗體。例示性雙特異性抗體可結合於如本文所述之CD79b蛋白質之兩個不同抗原決定基。其他該等抗體可組合CD79b結合位點與另一蛋白質之結合位點。或者，抗-CD79b臂可與結合於白血球上諸如T細胞受體分子(例如CD3)之誘發分子或諸如FcγRI(CD64)、FcγRII(CD32)及FcγRIII(CD16)之IgG之Fc受體(FcγR)的臂組合，以便針對表現CD79b之細胞集中及定位細胞防禦機制。雙特異性抗體亦可用於針對表現CD79b之細胞定位細胞毒性劑。此等抗體具有CD79b結合臂及結合細胞毒性劑(例如沙泊寧(saporin)、抗-干擾素-α、長春花生物鹼、篦麻毒素A鏈、甲胺喋呤或放射性同位素半抗原)之臂。雙特異性抗體可以全長抗體或抗體片段形式製備(例如$F(ab')_2$雙特異性抗體)。

WO 96/16673描述一種雙特異性抗-ErbB2/抗-FcγRIII抗體且美國專利第5,837,234號揭示一種雙特異性抗-ErbB2/抗-FcγRI抗體。雙特異性抗-ErbB2/Fcα抗體係展示於WO 98/02463中。美國專利第

5,821,337號教示一種雙特異性抗-ErbB2/抗-CD3抗體。

用於製造雙特異性抗體之方法在此項技術中係已知的。全長雙特異性抗體之傳統製造係基於兩個免疫球蛋白重鏈-輕鏈對之共表現，其中該兩個鏈具有不同特異性(Millstein等人，**Nature** 305:537-539 (1983))。由於免疫球蛋白重鏈及輕鏈隨機分配，因此此等融合瘤(四源雜交瘤)產生10種不同抗體分子之潛在混合物，其中僅一種具有正確雙特異性結構。通常藉由親和層析步驟進行之正確分子之純化相當繁瑣，且產物產率較低。類似程序係揭示於WO 93/08829及Traunecker等人，**EMBO J.** 10:3655-3659 (1991)中。

根據不同方法，使具有所需結合特異性之抗體可變域(抗體-抗原結合位點)與免疫球蛋白恆定域序列融合。較佳地，與包含鉸鏈、C_H2及C_H3區域之至少一部分的Ig重鏈恆定域融合。較佳使含有輕鏈結合所必需之位點的第一重鏈恆定區(C_H1)存在於融合物之至少一者中。將編碼免疫球蛋白重鏈融合物及(需要時)免疫球蛋白輕鏈之DNA插入獨立表現載體中，且共轉染至合適之宿主細胞中。當不等比率之用於建構之三個多肽鏈提供所需雙特異性抗體之最佳產率時，此提供調節實施例中三個多肽片段之相互比例的較高靈活性。然而，當等比率之至少兩個多肽鏈的表現導致高產率時或當比率對所需鏈組合之產率無顯著影響時，有可能將兩個或所有三個多肽鏈之編碼序列插入單一表現載體中。

在此方法之一較佳實施例中，雙特異性抗體係由在一個臂中具有第一結合特異性之雜合免疫球蛋白重鏈及在另一臂中之雜合免疫球蛋白重鏈-輕鏈對(提供第二結合特異性)構成。發現此不對稱結構有助於所需雙特異性化合物與不需要之免疫球蛋白鏈組合分離，因為免疫球蛋白輕鏈存在於僅一半雙特異性分子中提供容易分離之方式。此方法係揭示於WO 94/04690中。關於產生雙特異性抗體之其他詳細情

形，參見例如Suresh等人，**Methods in Enzymology** 121:210 (1986)。

根據美國專利第5,731,168號中所述之另一方法，抗體分子對之間的界面可經工程化以使自重組細胞培養物回收之異質二聚體的百分比最大化。較佳界面包含C_H3域之至少一部分。在此方法中，來自第一抗體分子之界面的一或多個小胺基酸側鏈經較大側鏈(例如，酪胺酸或色胺酸)置換。藉由用較小胺基酸側鏈(例如，丙胺酸或蘇胺酸)置換較大胺基酸側鏈而於第二抗體分子之界面上產生與大側鏈相同或類似之尺寸的補償性"空穴"。此提供一種使異質二聚體之產率增加超過其他不需要之終產物(諸如同質二聚體)的機制。

雙特異性抗體包括交聯或"異質共軛物"抗體。舉例而言，異質共軛物中抗體中之一者可與抗生物素蛋白偶合，另一者可與生物素偶合。舉例而言，已提出該等抗體使免疫系統細胞靶向不需要之細胞(美國專利第4,676,980號)，且用於治療HIV感染(WO 91/00360、WO 92/200373及EP 03089)。異質共軛物抗體可使用任何便利交聯方法來製造。合適之交聯劑在此項技術中係熟知的，且與許多交聯技術一起揭示於美國專利第4,676,980號中。

用於自抗體片段產生雙特異性抗體之技術亦已描述於文獻中。舉例而言，雙特異性抗體可使用化學鍵聯來製備。Brennan等人，**Science** 229:81 (1985)描述一種將完整抗體蛋白分解裂解以產生$F(ab')_2$片段之程序。在二硫醇錯合劑亞砷酸鈉存在下將此等片段還原以使鄰近二硫醇穩定且阻止形成分子間二硫鍵。接著將所產生之Fab'片段轉化為硫代硝基苯甲酸酯(TNB)衍生物。接著藉由用巰基乙胺還原將Fab'-TNB衍生物之一者再轉化為Fab'-硫醇且將其與等莫耳量之另一Fab'-TNB衍生物混合以形成雙特異性抗體。所產生之雙特異性抗體可用作選擇性固定酶之藥劑。

最新發展有助於自大腸桿菌直接回收Fab'-SH片段，可以化學方

法使該等片段偶合以形成雙特異性抗體。Shalaby等人，**J. Exp. Med.** 175: 217-225 (1992)描述完全人類化雙特異性抗體F(ab')2分子之製造。每一Fab'片段自大腸桿菌獨立分泌且使其經受活體外定向化學偶合以形成雙特異性抗體。由此形成之雙特異性抗體能夠與過表現ErbB2受體之細胞及正常人類T細胞結合，且誘發人類細胞毒性淋巴細胞針對人類乳腺腫瘤靶之溶解活性。

亦已描述用於直接自重組細胞培養物製造及分離雙特異性抗體片段之各種技術。舉例而言，已使用白胺酸拉鏈製造雙特異性抗體。Kostelny等人，**J. Immunol.**, 148(5):1547-1553 (1992)。藉由基因融合將來自Fos及Jun蛋白之白胺酸拉鏈肽連接於兩個不同抗體之Fab'部分。於鉸鏈區還原抗體同質二聚體以形成單體且接著再氧化以形成抗體異質二聚體。此方法亦可用於製造抗體同質二聚體。由Hollinger等人，**Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 90:6444-6448 (1993)所述之"雙功能抗體"技術已提供一種用於製造雙特異性抗體片段之替代性機制。該等片段包含藉由過短而使得同一鏈上之兩個域間無法配對的連接子連接於V_L之V_H。因此，迫使一個片段之V_H及V_L域與另一片段之互補V_L及V_H域配對，由此形成兩個抗原結合位點。亦已報導另一種藉由使用單鏈Fv(sFv)二聚體製造雙特異性抗體片段之策略。參見Gruber等人，**J. Immunol.**, 152:5368 (1994)。

本發明涵蓋具有2以上之價數之抗體。舉例而言，可製備三特異性抗體。Tutt等人，**J. Immunol.** 147:60 (1991)。

6.異質共軛物抗體

異質共軛物抗體亦在本發明之範疇內。異質共軛物抗體係由兩個共價連接之抗體構成。舉例而言，已提出該等抗體使免疫系統細胞靶向不需要之細胞[美國專利第4,676,980號]，且用於治療HIV感染[WO 91/00360；WO 92/200373；及EP 03089]。預期可使用合成蛋白

質化學中之已知方法(包括涉及交聯劑之彼等者)在活體外製備抗體。舉例而言，免疫毒素可使用二硫鍵交換反應或藉由形成硫醚鍵來建構。出於此目的，合適之試劑之實例包括亞胺基硫醇鹽及甲基-4-巰基丁醯亞胺及例如美國專利第4,676,980號中所揭示之彼等者。

7.多價抗體

多價抗體可藉由表現抗體所結合之抗原的細胞快於二價抗體內在化(及/或異化)。本發明之抗體可為具有三個或三個以上抗原結合位點之多價抗體(例如，四價抗體)(其不同於IgM類)，其可容易地藉由編碼抗體之多肽鏈之核酸的重組表現來產生。多價抗體可包含二聚化結構域及三個或三個以上抗原結合位點。較佳二聚化結構域包含Fc區或鉸鏈區(或由其組成)。在此情況下，抗體將包含Fc區及位於該Fc區之胺基末端的三個或三個以上抗原結合位點。本文中之較佳多價抗體包含三個至約八個(但較佳四個)抗原結合位點(或由其組成)。多價抗體包含至少一個多肽鏈(且較佳兩個多肽鏈)，其中該(等)多肽鏈包含兩個或兩個以上可變域。舉例而言，多肽鏈可包含VD1-$(X1)_n$-VD2-$(X2)_n$-Fc，其中VD1為第一可變域，VD2為第二可變域，Fc為Fc區之一個多肽鏈，X1及X2表示胺基酸或多肽，且n為0或1。舉例而言，多肽鏈可包含：VH-CH1-可撓性連接子-VH-CH1-Fc區鏈；或VH-CH1-VH-CH1-Fc區鏈。本文中之多價抗體較佳進一步包含至少兩個(且較佳四個)輕鏈可變域多肽。本文中之多價抗體可(例如)包含約兩個至約八個輕鏈可變域多肽。本文中所涵蓋之輕鏈可變域多肽包含輕鏈可變域且視情況進一步包含CL域。

8.效應功能工程化

可希望就效應功能而言修飾本發明之抗體，例如以便增強抗體之抗原依賴性細胞介導細胞毒性(ADCC)及/或補體依賴性細胞毒性(CDC)。此可藉由將一或多個胺基酸取代引入抗體之Fc區中來達成。

或者或另外，可將半胱胺酸殘基引入Fc區中，藉此允許此區內形成鏈間二硫鍵。由此產生之同質二聚抗體可具有改善之內在化能力及/或增加之補體介導細胞殺死及抗體依賴性細胞細胞毒性(ADCC)。參見Caron等人，**J. Exp Med.** 176:1191-1195 (1992)及Shopes, B. **J. Immunol.** 148:2918-2922 (1992)。抗腫瘤活性增強之同質二聚抗體亦可使用如Wolff等人，**Cancer Research** 53:2560-2565 (1993)中所述之異型雙官能交聯劑來製備。或者，抗體可經工程化具有雙Fc區且進而可具有增強之補體溶解及ADCC能力。參見Stevenson等人，**Anti-Cancer Drug Design** 3:219-230 (1989)。為增加抗體之血清半衰期，吾人可將補救受體結合抗原決定基併入抗體(尤其抗體片段)中，例如美國專利5,739,277中所述。如本文所使用，術語"補救受體結合抗原決定基"係指負責增加IgG分子之活體內血清半衰期的IgG分子(例如IgG_1、IgG_2、IgG_3或IgG_4)之Fc區之抗原決定基。

9.**免疫共軛物**

本發明亦係關於免疫共軛物(可互換地稱為"抗體-藥物共軛物"或"ADC")，其包含與諸如化學治療劑、生長抑制劑、毒素(例如細菌、真菌、植物或動物來源之酶促活性毒素，或其片段)或放射性同位素(亦即，放射性共軛物)之細胞毒性劑共軛之抗體。

在某些實施例中，免疫共軛物包含抗體及化學治療劑或其他毒素。適用於產生該等免疫共軛物之化學治療劑已在上文描述。可使用之酶促活性毒素及其片段包括白喉A鏈、白喉毒素之非結合活性片段、外毒素(exotoxin)A鏈(來自綠膿桿菌(*Pseudomonas aeruginosa*))、篦麻毒素A鏈、相思豆毒素(abrin)A鏈、莫迪素(modeccin)A鏈、α-帚麴菌素(sarcin)、油桐(*Aleurites fordii*)蛋白、康乃馨蛋白、洋商陸(*Phytolaca americana*)蛋白(PAPI、PAPII及PAP-S)、苦瓜(*momordica charantia*)抑制劑、麻楓樹蛋白(curcin)、巴豆毒素(crotin)、肥皂草

(sapaonaria officinalis)抑制劑、天堂果蛋白(gelonin)、有絲分裂素、侷限麴菌素(restrictocin)、酚黴素(phenomycin)、伊諾黴素(enomycin)及黴菌毒素(tricothecene)。各種放射性核種可用於製造放射性共軛抗體。實例包括^{212}Bi、^{131}I、^{131}In、^{90}Y及^{186}Re。使用各種雙官能蛋白質偶合劑來製造抗體與細胞毒性劑之共軛物，該等蛋白質偶合劑諸如：N-丁二醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫醇)丙酸酯(SPDP)、亞胺基硫雜環戊烷(iminothiolane)(IT)、亞胺酸酯(imidoesters)之雙官能衍生物(諸如己二亞胺二甲酯鹽酸鹽(dimethyl adipimidate HCL))、活性酯(諸如辛二酸二丁二醯亞胺酯)、醛(諸如戊二醛)、雙疊氮基化合物(諸如雙(對疊氮基苄醯基)己二胺)、雙重氮鎓衍生物(諸如雙-(對重氮鎓苄醯基)-乙二胺)、二異氰酸酯(諸如甲苯2,6-二異氰酸酯)及雙活性氟化合物(諸如1,5-二氟-2,4-二硝基苯)。舉例而言，篦麻毒素免疫毒素可如Vitetta等人，**Science, 238**: 1098 (1987)中所述來製備。經碳14標記之1-異硫氰酸根苄基-3-甲基二伸乙三胺五乙酸(MX-DTPA)為用於使放射性核苷酸與抗體共軛之例示性螯合劑。參見WO 94/11026。

抗體與一或多個小分子毒素及此等毒素之具有毒素活性之衍生物的共軛物亦涵蓋於本文中，該等毒素諸如卡奇黴素、奧瑞他汀肽(諸如單甲基奧瑞他汀(MMAE)(海兔毒素之合成類似物))、美登素類(諸如DM1)、曲可辛(trichothene)及CC1065。

例示性免疫共軛物-抗體-藥物共軛物

本發明之免疫共軛物(或"抗體-藥物共軛物"("ADC"))可為以下式I，其中抗體經由可選連接子(L)與一或多個藥物部分(D)共軛(亦即，共價連接)。ADC可包括thioMAb藥物共軛物("TDC")。

$$Ab-(L-D)_p \qquad I$$

因此，該抗體可直接或經由連接子與藥物共軛。在式I中，p為每抗體藥物部分之平均數，其範圍可例如為每抗體約1個至約20個藥物

部分，且在某些實施例中範圍為每抗體1個至約8個藥物部分。本發明包括一種包含式I之抗體-藥物化合物之混合物的組合物，其中每抗體平均藥物負荷為約2至約5，或約3至約4。

a.例示性連接子

連接子可包含一或多個連接子組分。例示性連接子組分包括6-順丁烯二醯亞胺基己醯基("MC")、順丁烯二醯亞胺基丙醯基("MP")、纈胺酸-瓜胺酸("val-cit"或"vc")、丙胺酸-苯丙胺酸("ala-phe")、對胺基苄氧羰基("PAB")及由與下列連接子試劑共軛所產生之彼等者：4-(2-吡啶基硫基)戊酸N-丁二醯亞胺酯("SPP")、4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1甲酸N-丁二醯亞胺酯("SMCC"，本文中亦稱為"MCC")及(4-碘-乙醯基)胺基苯甲酸N-丁二醯亞胺酯("SIAB")。各種連接子組分在此項技術中係已知的，其中一些描述在下文中描述。

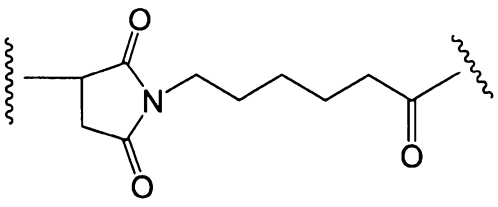
連接子可為"可裂解連接子"，其有助於藥物在細胞中釋放。舉例而言，可使用酸不穩定性連接子(例如，腙)、蛋白酶敏感性(例如，肽酶敏感性)連接子、光不穩定性連接子、二甲基連接子或含有二硫鍵之連接子(Chari等人，Cancer Research 52:127-131 (1992)；美國專利第5,208,020號)。

在某些實施例中，連接子係以以下式II所示：

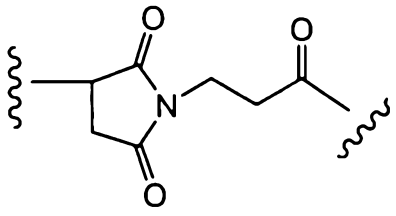
$$-A_a-W_w-Y_y- \qquad \text{II，}$$

其中A為延展基(stretcher)單元，且a為0至1之整數；W為胺基酸單元，且w為0至12之整數，Y為間隔基單元，且y為0、1或2；且Ab、D及p係如上文對於式I所定義。該等連接子之例示性實施例係描述於US 2005-0238649 A1中，該案明確地以引用的方式併入本文中。

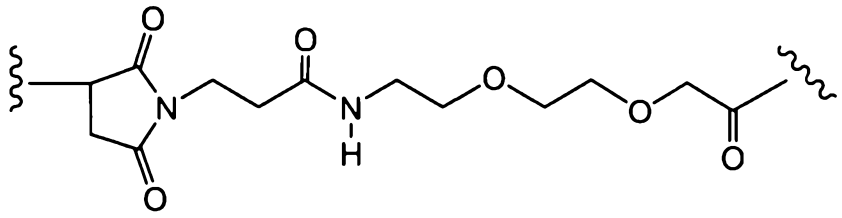
在一些實施例中，連接子組分可包含使抗體連接於另一連接子組分或藥物部分之"延展基單元"。例示性延展基單元展示於下文中(其中波形線指示連接至抗體之共價連接位點)。



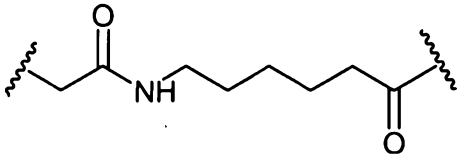
MC



MP



MPEG



。

在一些實施例中，連接子組分可包含胺基酸單元。在一此類實施例中，胺基酸單元允許連接子由蛋白酶所裂解，藉此有助於在暴露於細胞內蛋白酶(諸如溶酶體酶)後自免疫共軛物釋放藥物。參見例如Doronina等人(2003) *Nat. Biotechnol.* 21:778-784。例示性胺基酸單元包括(但不限於)二肽、三肽、四肽及五肽。例示性二肽包括：纈胺酸-瓜胺酸(vc或val-cit)、丙胺酸-苯丙胺酸(af或ala-phe)、苯丙胺酸-離胺酸(fk或phe-lys)或N-甲基-纈胺酸-瓜胺酸(Me-val-cit)。例示性三肽包括：甘胺酸-纈胺酸-瓜胺酸(gly-val-cit)及甘胺酸-甘胺酸-甘胺酸(gly-gly-gly)。胺基酸單元可包含天然存在之胺基酸殘基，以及次要胺基酸及非天然存在之胺基酸類似物，諸如瓜胺酸。可對胺基酸單元進行設計且最優化其選擇性以便由特定酶(例如腫瘤相關蛋白酶、組織蛋

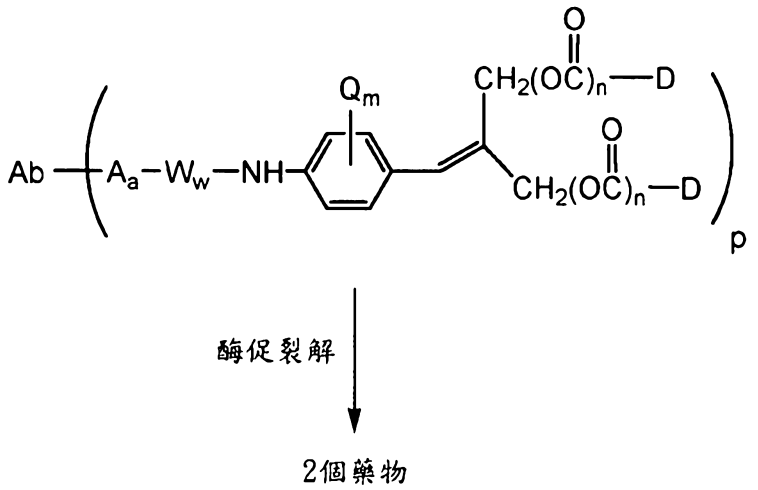
白酶B、C及D或纖溶酶蛋白酶)酶促裂解。

在一些實施例中，連接子組分可包含使抗體直接或經由延展基單元及/或胺基酸單元連接於藥物部分之"間隔基"單元。間隔基單元可為"自我犧牲型(self-immolative)"或"非自我犧牲型"。"非自我犧牲型"間隔基單元為在ADC之酶促(例如蛋白水解)裂解後間隔基單元之部分或全部保持結合於藥物部分之間隔基單元。非自我犧牲型間隔基單元之實例包括(但不限於)甘胺酸間隔基單元及甘胺酸-甘胺酸間隔基單元。亦涵蓋對序列特異性酶促裂解敏感之肽間隔基之其他組合。舉例而言，腫瘤細胞相關蛋白酶對含有甘胺酸-甘胺酸間隔基單元之ADC的酶促裂解將導致自ADC之剩餘部分釋放甘胺酸-甘胺酸-藥物部分。在一此類實施例中，接著甘胺酸-甘胺酸-藥物部分在腫瘤細胞中經受獨立水解步驟，由此自藥物部分裂解甘胺酸-甘胺酸間隔基單元。

"自我犧牲型"間隔基單元允許在無獨立水解步驟之情況下釋放藥物部分。在某些實施例中，連接子之間隔基單元包含對胺基苄基單元。在一此類實施例中，對胺基苄醇經由醯胺鍵連接於胺基酸單元，且在苄醇與細胞毒性劑之間形成胺基甲酸酯、甲基胺基甲酸酯或碳酸酯。參見(例如)Hamann等人(2005) *Expert Opin. Ther. Patents* (2005) 15:1087-1103。在一實施例中，間隔基單元為對胺基苄氧羰基(PAB)。在某些實施例中，對胺基苄基單元之伸苯基部分經Qm取代，其中Q為-C_1-C_8烷基、-O-(C_1-C_8烷基)、 -鹵素、-硝基或-氰基；且m為範圍為0-4之整數。自我犧牲型間隔基單元之實例進一步包括(但不限於)在電子學上類似於對胺基苄醇之芳族化合物(參見例如US 2005/0256030 A1)，諸如2-胺基咪唑-5-甲醇衍生物(Hay等人(1999) Bioorg. Med. Chem. Lett. 9:2237)及鄰胺基苄基縮醛或對胺基苄基縮醛。可使用在醯胺鍵水解後經歷環化之間隔基，諸如經取代及未經取

代之4-胺基丁酸醯胺(Rodrigues等人，*Chemistry Biology,* 1995, 2, 223)；適當地經取代之雙環[2.2.1]及雙環[2.2.2]環系統(Storm等人，J. Amer. Chem. Soc., 1972, 94, 5815)；及2-胺基苯基丙酸醯胺(Amsberry等人，J. Org. Chem., 1990, 55, 5867)。於甘胺酸之α位置處經取代之含胺藥物的消除(Kingsbury等人，*J. Med. Chem.*, 1984, 27, 1447)亦為適用於ADC之自我犧牲型間隔基之實例。

在一實施例中，間隔基單元為如下文所述之支鏈雙(羥甲基)苯乙烯(BHMS)單元，其可用於合併及釋放多個藥物。

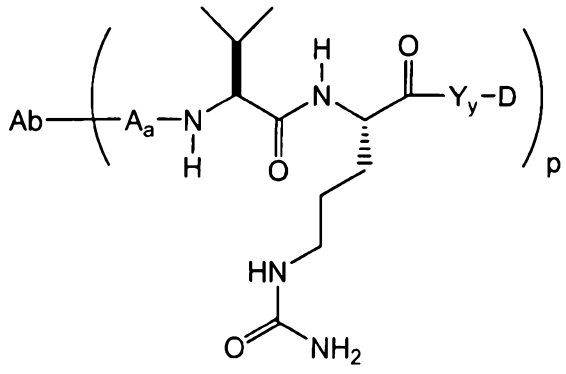


其中Q為-C_1-C_8烷基、-O-(C_1-C_8烷基)、-鹵素、-硝基或-氰基；m為範圍為0-4之整數；n為0或1；且p範圍為1至約20。

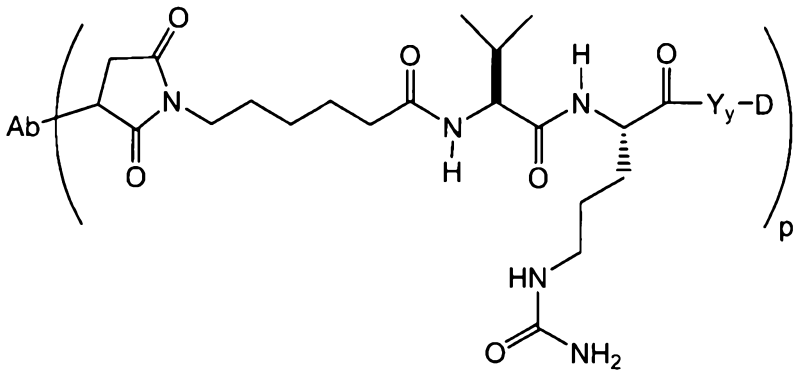
在另一實施例中，連接子L可為用於經由分枝、多官能連接子部分使一個以上藥物部分共價連接於抗體之樹枝型連接子(Sun等人(2002) Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 12:2213-2215；Sun等人(2003) Bioorganic & Medicinal Chemistry 11:1761-1768)。樹枝狀連接子可增加藥物與抗體之莫耳比率，亦即負荷，其與ADC之效能有關。因此，當半胱胺酸工程化抗體僅帶有一個反應性半胱胺酸硫醇基時，許多藥物部分可經由樹枝狀連接子連接。

在式II之ADC之情況下，例示性連接子組分及其組合展示於下文

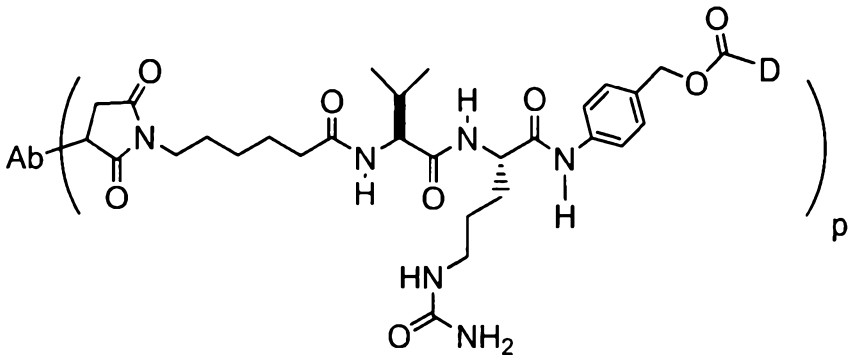
中：



Val-Cit或VC



MC-val-cit



MC-val-cit-PAB

包括延展基、間隔基及胺基酸單元之連接子組分可藉由此項技術中已知之方法來合成，諸如US 2005-0238649 A1中所述之彼等者。

b.例示性藥物部分

(1)美登素及美登素類

在一些實施例中，免疫共軛物包含與一或多個美登素類分子共軛之抗體。美登素類為有絲分裂抑制劑，其藉由抑制微管蛋白聚合而

起作用。美登素最初係自東非灌木齒葉美登木(Maytenus serrata)中分離得之(美國專利第3896111號)。隨後，發現某些微生物亦產生美登素類，諸如美登醇(maytansinol)及C-3美登醇酯(美國專利第4,151,042號)。合成美登醇及其衍生物與類似物(例如)揭示於美國專利第4,137,230號；第4,248,870號；第4,256,746號；第4,260,608號；第4,265,814號；第4,294,757號；第4,307,016號；第4,308,268號；第4,308,269號；第4,309,428號；第4,313,946號；第4,315,929號；第4,317,821號；第4,322,348號；第4,331,598號；第4,361,650號；第4,364,866號；第4,424,219號；第4,450,254號；第4,362,663號；及第4,371,533號中。

美登素類藥物部分為抗體-藥物共軛物中有吸引力之藥物部分，此係因為其：(i)可相對容易地藉由醱酵或醱酵產物之化學修飾或衍生來製備；(ii)易被衍生化而具有適合於經由二硫鍵及非二硫鍵連接子與抗體共軛之官能基；(iii)在血漿中穩定；且(iv)有效抵抗各種腫瘤細胞株。

適合用作美登素類藥物部分之美登素化合物在此項技術中係熟知的且可根據已知方法自天然來源分離或使用遺傳工程化及醱酵技術產生(US 6790952；US 2005/0170475；Yu等人(2002) PNAS 99:7968-7973)。美登醇及美登醇類似物亦可根據已知方法合成製備。

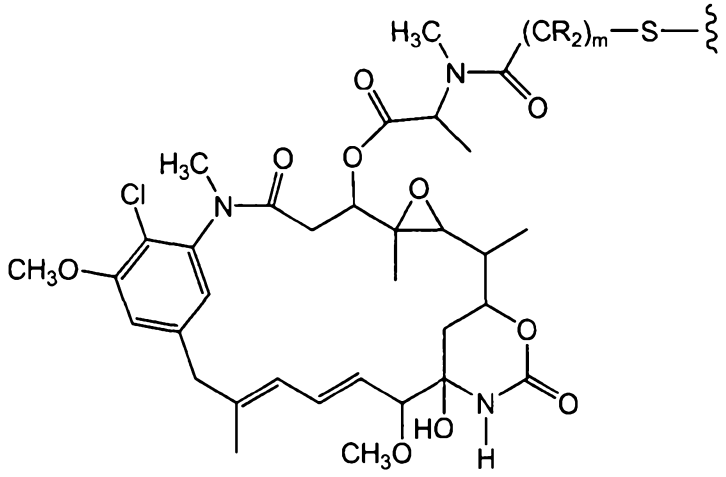
例示性美登素類藥物部分包括具有經修飾之芳族環之彼等者，諸如：C-19-脫氯(美國專利第4256746號)(藉由美登木素(ansamytocin)P2之氫化鋁鋰還原來製備)；C-20-羥基(或C-20-脫甲基)+/-C-19-脫氯(美國專利第4361650號及第4307016號)(藉由使用鏈黴菌(*Streptomyces*)或放線菌(*Actinomyces*)脫甲基或使用LAH脫氯來製備)；及C-20-脫甲氧基、C-20-醯氧基(-OCOR)、+/-脫氯(美國專利第4,294,757號)(藉由使用醯基氯醯化來製備)，以及於其他位置處具有

修飾之彼等者。

例示性美登素類藥物部分亦包括具有諸如以下之修飾的彼等者：C-9-SH(美國專利第4424219號)(藉由使美登醇與H_2S或P_2S_5反應來製備)；C-14-烷氧基甲基(脫甲氧基/ CH_2OR)(US 4331598)；C-14-羥甲基或醯氧基甲基(CH_2OH或CH_2OAc)(美國專利第4450254號)(自奴卡菌(Nocardia)製備)；C-15-羥基/醯氧基(US 4364866)(藉由以鏈黴菌使美登醇轉化來製備)；C-15-甲氧基(美國專利第4313946號及第4315929號)(自滑桃樹(Trewia nudlflora)分離)；C-18-N-脫甲基(美國專利第4362663號及第4322348號)(藉由以鏈黴菌使美登醇脫甲基來製備)；及4,5-脫氧基(US 4371533)(藉由美登醇之三氯化鈦/LAH還原反應來製備)。

已知美登素化合物上之許多位置適用作鍵聯位置，此視連接類型而定。舉例而言，對於形成酯鍵而言，具有羥基之C-3位置、經羥甲基修飾之C-14位置、經羥基修飾之C-15位置及具有羥基之C-20位置均為合適的(US 5208020；US RE39151；US 6913748；US 7368565；US 2006/0167245；US 2007/0037972)。

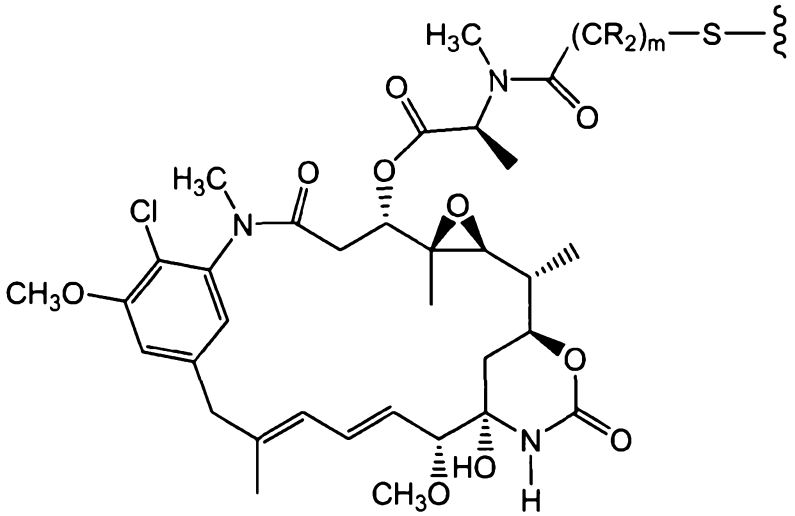
美登素類藥物部分包括具有以下結構之彼等者：



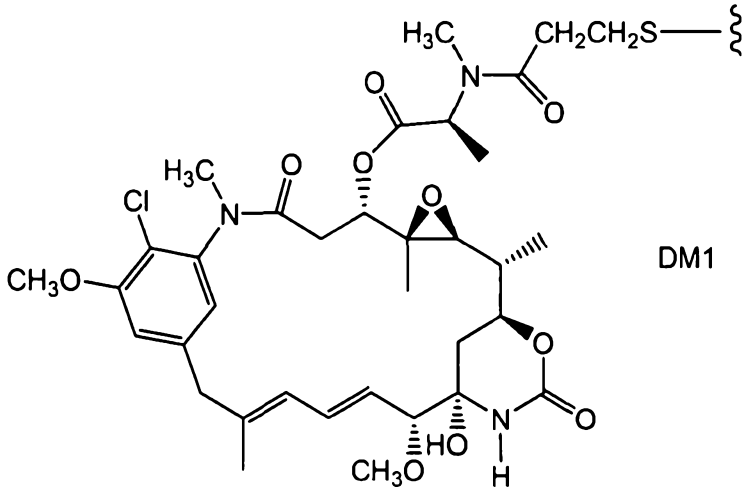
其中波形線指示美登素類藥物部分之硫原子至ADC之連接子的

共價連接。R可獨立地為H或C_1-C_6烷基。使醯胺基團連接於硫原子之伸烷基鏈可為亞甲基、伸乙基或伸丙基，亦即m為1、2或3(US 633410；US 5208020；US 7276497；Chari等人(1992) *Cancer Res.* 52:127-131；Liu等人(1996) *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 93:8618-8623)。

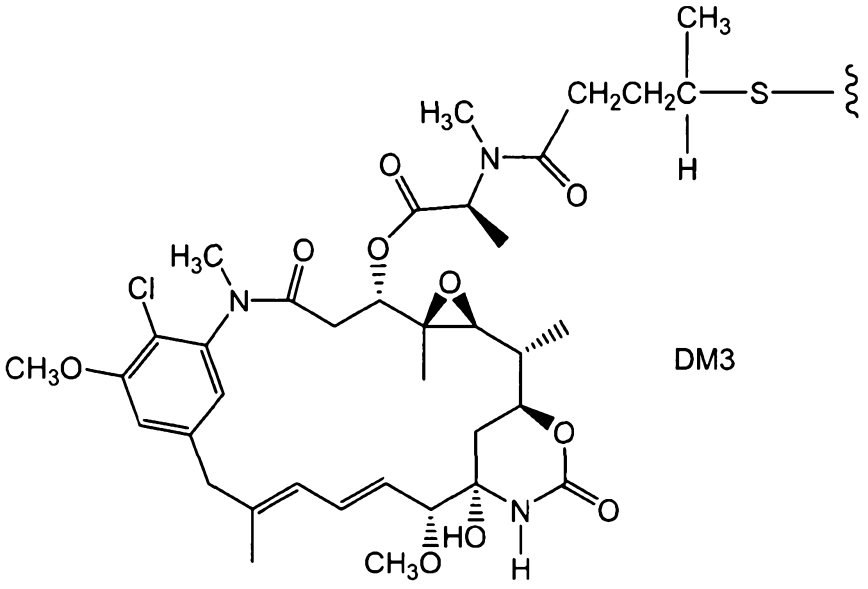
本發明之化合物涵蓋美登素類藥物部分之所有立體異構體，亦即D之對掌性碳處之R與S構型的任何組合。在一實施例中，美登素類藥物部分將具有下列立體化學結構：



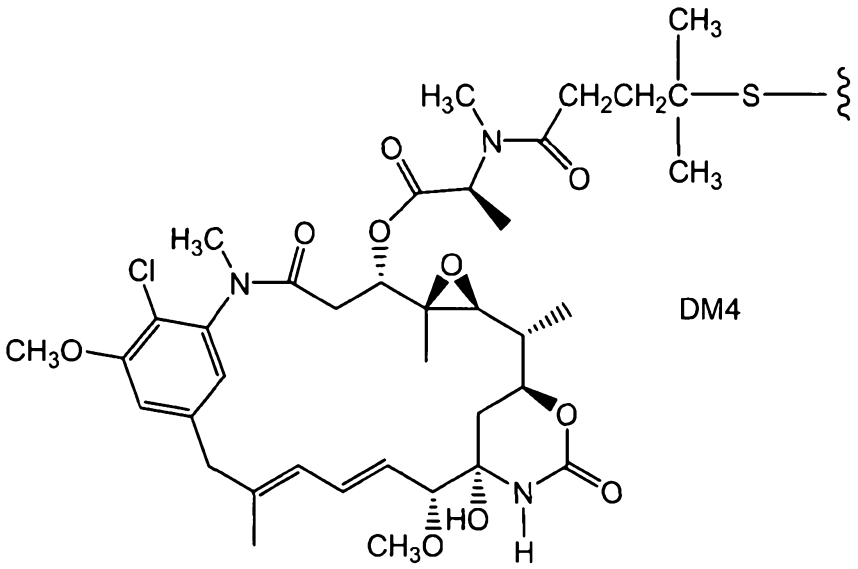
美登素類藥物部分之例示性實施例包括：DM1、DM3及DM4，其具有以下結構：



DM1



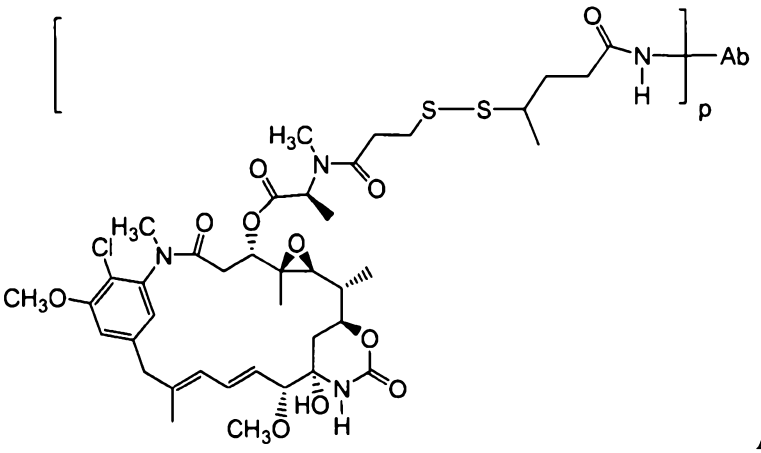
DM3



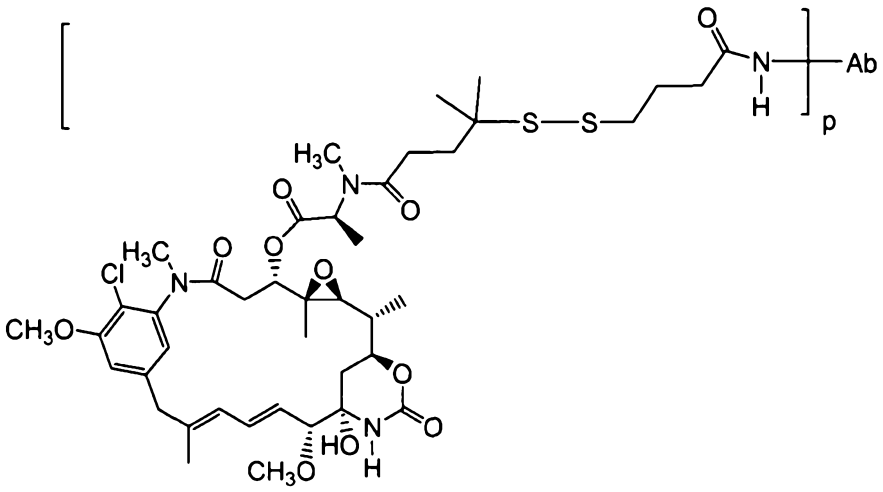
DM4

其中波形線指示藥物之硫原子至抗體-藥物共軛物之連接子(L)的共價連接。(WO 2005/037992；US 2005/0276812 A1)。

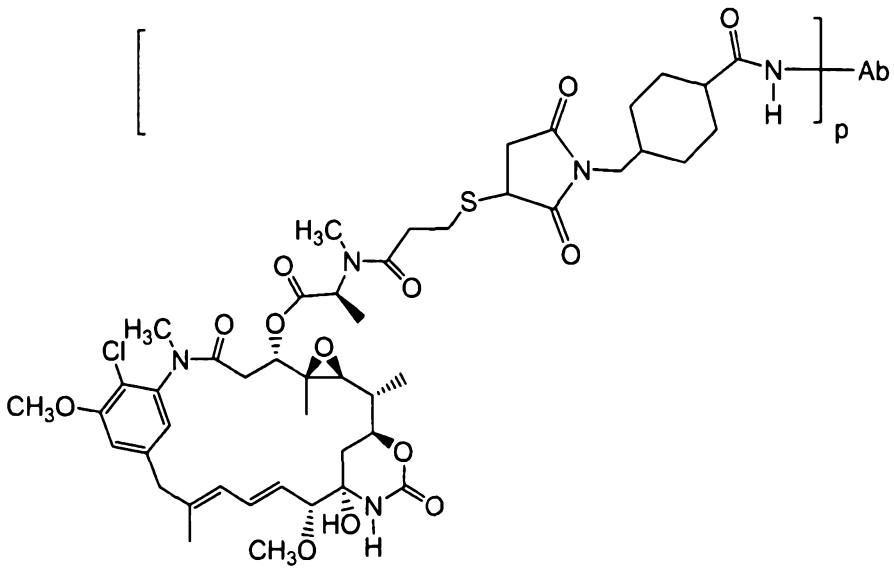
其他例示性美登素類抗體-藥物共軛物具有以下結構及縮寫(其中Ab為抗體且p為1至約8)：



Ab-SPP-DM1；

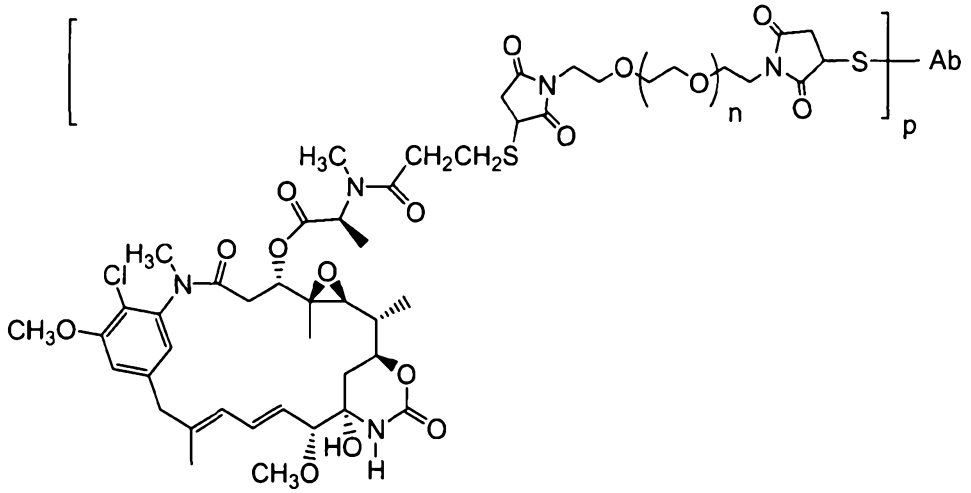


Ab-SPDB-DM4



Ab-SMCC-DM1

例示性抗體-藥物共軛物(其中DM1經由BMPEO連接子連接於抗體之硫醇基)具有以下結構及縮寫：



其中Ab為抗體；n為0、1或2；且p為1、2、3或4。

含有美登素類之免疫共軛物、製造其之方法及其治療用途係(例如)揭示於Erickson等人(2006) Cancer Res. 66(8):4426-4433；美國專利第5,208,020號、第5,416,064號、US 2005/0276812 A1及歐洲專利EP 0 425 235 B1中，該等文獻之揭示內容明確地以引用的方式併入本文中。

抗體-美登素類共軛物係藉由以化學方法使抗體連接於美登素類分子但不顯著減小抗體或美登素類分子之生物活性來製備。參見(例如)美國專利第5,208,020號(其揭示內容明確地以引用的方式併入本文中)。美登素類可藉由已知技術合成或自天然來源分離。合適之美登素類係(例如)揭示於美國專利第5,208,020號以及上文所提及之其他專利及非專利公開案中，諸如美登醇及於芳族環中或於美登醇分子之其他位置處經修飾之美登醇類似物，諸如各種美登醇酯。

此項技術中已知存在有許多鍵聯基團用於製造抗體-美登素類共軛物，包括(例如)美國專利第5208020號或歐洲專利0 425 235 B1；Chari等人*Cancer Research* 52:127-131 (1992)；及US 2005/016993 A1中所揭示之彼等者，該等文獻之揭示內容明確地以引用的方式併入本文中。包含連接子組分SMCC之抗體-美登素類共軛物可如US 2005/0276812 A1，"Antibody-drug conjugates and Methods"中所揭示

來製備。該等連接子包含二硫基、硫醚基團、酸不穩定性基團、光不穩定性基團、肽酶不穩定性基團或酯酶不穩定性基團，如上文確定之專利中所揭示。本文中描述及例示其他連接子。

可使用各種雙官能蛋白質偶合劑來製造抗體與美登素類之共軛物，該等蛋白質偶合劑諸如N-丁二醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫基)丙酸酯(SPDP)、丁二醯亞胺基-4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1-甲酸酯(SMCC)、亞胺基硫雜環戊烷(IT)、亞胺基酯之雙官能衍生物(諸如己二亞胺二甲酯鹽酸鹽)、活性酯(諸如辛二酸二丁二醯亞胺酯)、醛(諸如戊二醛)、雙疊氮基化合物(諸如雙(對疊氮基苄醯基)己二胺)、雙重氮鎓衍生物(諸如雙-(對重氮鎓苄醯基)-乙二胺)、二異氰酸酯(諸如甲苯2,6-二異氰酸酯)及雙活性氟化合物(諸如1,5-二氟-2,4-二硝基苯)。在某些實施例中，偶合劑為N-丁二醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫基)丙酸酯(SPDP)(Carlsson等人，*Biochem. J.* 173:723-737 (1978))或N-丁二醯亞胺基-4-(2-吡啶基硫基)戊酸酯(SPP)以提供二硫鍵。

連接子可於各種位置處連接於美登素類分子，此視連接類型而定。舉例而言，酯鍵可藉由使用習知偶合技術與羥基反應來形成。該反應可於具有羥基之C-3位置、經羥甲基修飾之C-14位置、經羥基修飾之C-15位置及具有羥基之C-20位置處發生。在一實施例中，於美登醇或美登醇類似物之C-3位置處形成鍵聯。

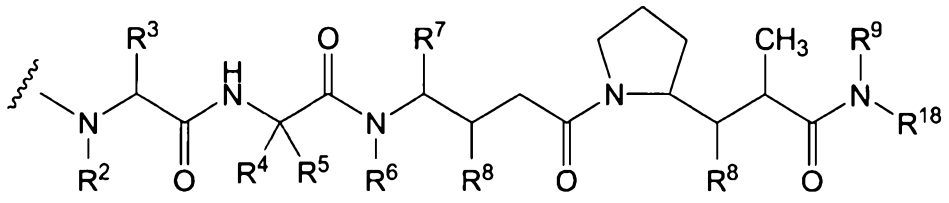
(2)奧瑞他汀及海兔毒素

在一些實施例中，免疫共軛物包含與海兔毒素或海兔毒素肽類似物或衍生物(例如，奧瑞他汀(美國專利第5635483號；第5780588號))共軛之抗體。已顯示海兔毒素及奧瑞他汀干擾微管動力學特性、GTP水解以及核及細胞分裂(Woyke等人(2001) *Antimicrob. Agents and Chemother.* 45(12):3580-3584)且具有抗癌活性(美國專利第5663149號)及抗真菌活性(Pettit等人(1998) *Antimicrob. Agents Chemother.*

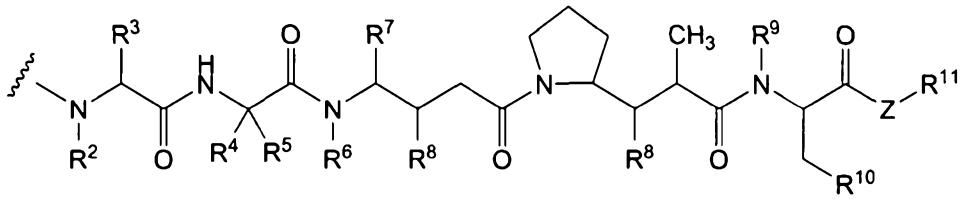
42:2961-2965)。海兔毒素或奧瑞他汀藥物部分可經由肽藥物部分之N(胺基)末端或C(羧基)末端連接於抗體(WO 02/088172)。

例示性奧瑞他汀實施例包括N末端連接之單甲基奧瑞他汀藥物部分DE及DF(US 2005/0238649，揭示於2004年3月28日提出之Senter等人，Proceedings of the American Association for Cancer Research，第45卷，摘要編號623中，該文獻之揭示內容明確地以全文引用的方式併入本文中)。

肽藥物部分可選自以下式D_E及式D_F之部分：



D_E



D_F

其中D_E及D_F之波形線指示連接至抗體或抗體-連接子組分之共價連接位點，且在各位置處以下情況為獨立的。

R^2係選自H及C_1-C_8烷基；

R^3係選自H、C_1-C_8烷基、C_3-C_8碳環、芳基、C_1-C_8烷基-芳基、C_1-C_8烷基-(C_3-C_8碳環)、C_3-C_8雜環及C_1-C_8烷基-(C_3-C_8雜環)；

R^4係選自H、C_1-C_8烷基、C_3-C_8碳環、芳基、C_1-C_8烷基-芳基、C_1-C_8烷基-(C_3-C_8碳環)、C_3-C_8雜環及C_1-C_8烷基-(C_3-C_8雜環)；

R^5係選自H及甲基；

或R^4與R^5共同形成碳環且具有式-$(CR^aR^b)_n$-，其中R^a及R^b獨立地

選自H、C_1-C_8烷基及C_3-C_8碳環且n係選自2、3、4、5及6；

R^6係選自H及C_1-C_8烷基；

R^7係選自H、C_1-C_8烷基、C_3-C_8碳環、芳基、C_1-C_8烷基-芳基、C_1-C_8烷基-(C_1-C_8碳環)、C_3-C_8雜環及C_1-C_8烷基-(C_3-C_8雜環)；

R^8各自獨立地選自H、OH、C_1-C_8烷基、C_3-C_8碳環及O-(C_1-C_8烷基)；

R^9係選自H及C_1-C_8烷基；

R^{10}係選自芳基或C_3-C_8雜環；

Z為O、S、NH或NR^{12}，其中R^{12}為C_1-C_8烷基；

R^{11}係選自H、C_1-C_{20}烷基、芳基、C_3-C_8雜環、$-(R^{13}O)_m-R^{14}$或$-(R^{13}O)_m-CH(R^{15})_2$；

m為範圍為1-1000之整數；

R^{13}為C_2-C_8烷基；

R^{14}為H或C_1-C_8烷基；

R^{15}在每次出現時獨立地為H、COOH、$-(CH_2)_n-N(R^{16})_2$、$-(CH_2)_n-SO_3H$或$-(CH_2)_n-SO_3-C_1$-C_8烷基；

R^{16}在每次出現時獨立地為H、C_1-C_8烷基或$-(CH_2)_n-COOH$；

R^{18}係選自$-C(R^8)_2-C(R^8)_2$-芳基、$-C(R^8)_2-C(R^8)_2-(C_3$-C_8雜環)及$-C(R^8)_2-C(R^8)_2-(C_3$-C_8碳環)；且

n為範圍為0至6之整數。

在一實施例中，R^3、R^4及R^7獨立地為異丙基或第二丁基且R^5為-H或甲基。在一例示性實施例中，R^3及R^4各自為異丙基，R^5為-H，且R^7為第二丁基。

在又一實施例中，R^2及R^6各自為甲基，且R^9為-H。

在又一實施例中，R^8在每次出現時為$-OCH_3$。

在一例示性實施例中，R^3及R^4各自為異丙基，R^2及R^6各自為甲

基，R^5為-H，R^7為第二丁基，R^8在每次出現時為-OCH_3，且R^9為-H。

在一實施例中，Z為-O-或-NH-。

在一實施例中，R^{10}為芳基。

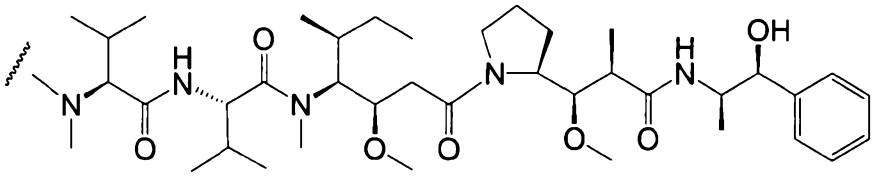
在一例示性實施例中，R^{10}為-苯基。

在一例示性實施例中，當Z為-O-時，R^{11}為-H、甲基或第三丁基。

在一實施例中，當Z為-NH時，R^{11}為-$CH(R^{15})_2$，其中R^{15}為-$(CH_2)_n$-$N(R^{16})_2$，且R^{16}為C_1-C_8烷基或-$(CH_2)_n$-COOH。

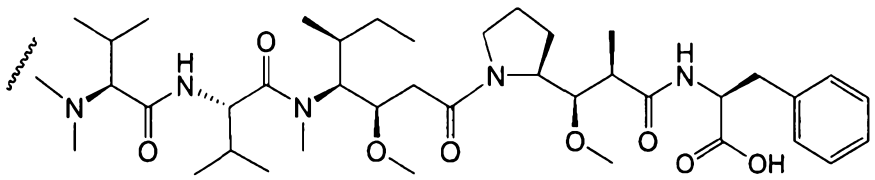
在另一實施例中，當Z為-NH時，R^{11}為-$CH(R^{15})_2$，其中R^{15}為-$(CH_2)_n$-SO_3H。

式D_E之一例示性奧瑞他汀實施例為MMAE，其中波形線指示連接至抗體-藥物共軛物之連接子(L)的共價連接：



MMAE。

式D_F之一例示性奧瑞他汀實施例為MMAF，其中波形線指示連接至抗體-藥物共軛物之連接子(L)的共價連接(參見US 2005/0238649及Doronina等人(2006) *Bioconjugate Chem.* 17:114-124)：

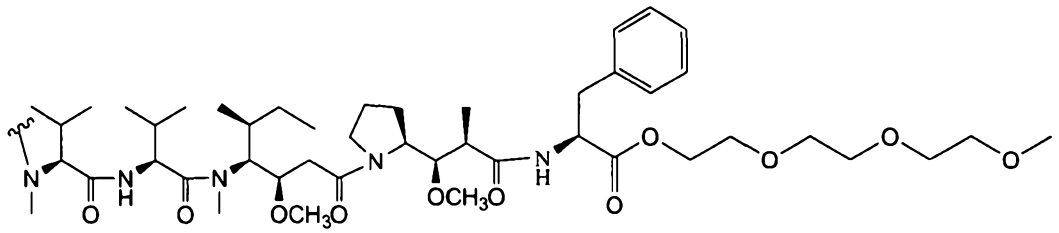


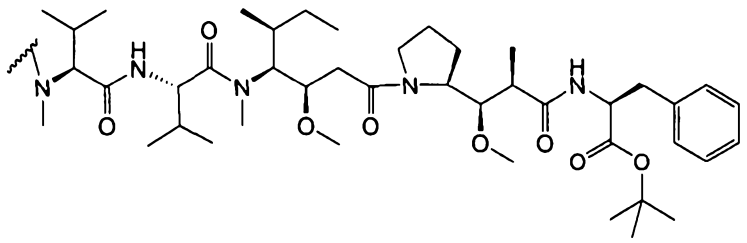
MMAF。

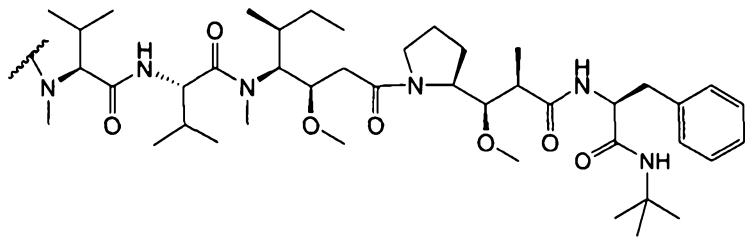
其他例示性實施例包括於五肽奧瑞他汀藥物部分之C末端處具有苯丙胺酸羧基修飾的單甲基纈胺酸化合物(WO 2007/008848)及於五肽奧瑞他汀藥物部分之C末端處具有苯丙胺酸側鏈修飾的單甲基纈胺酸

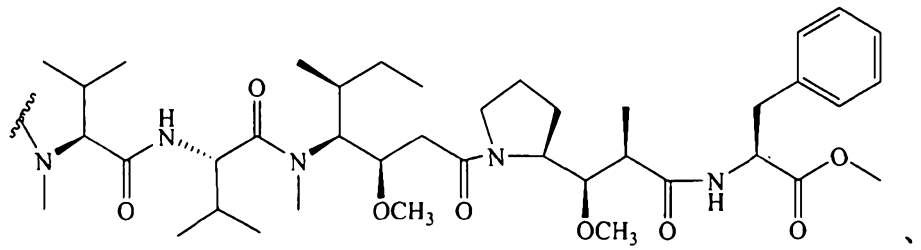
化合物(WO 2007/008603)。

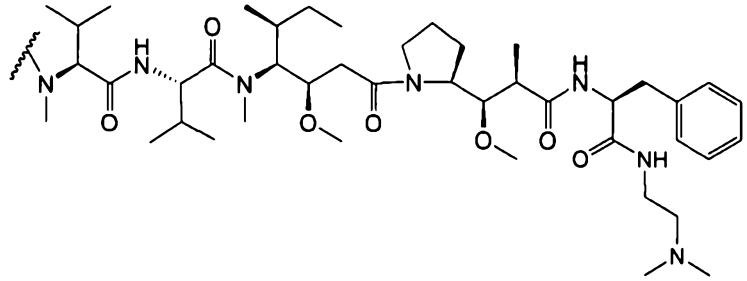
其他藥物部分包括下列MMAF衍生物，其中波形線指示連接至抗體-藥物共軛物之連接子(L)的共價連接：

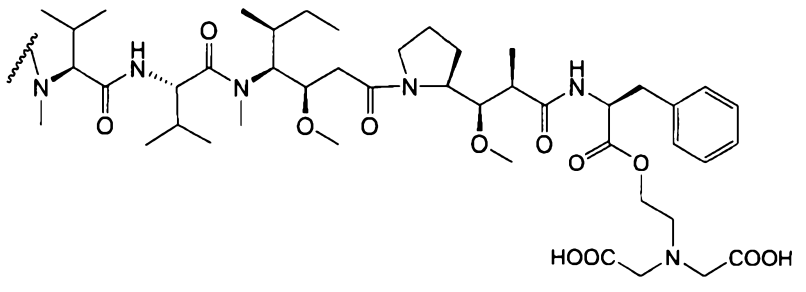

、


、

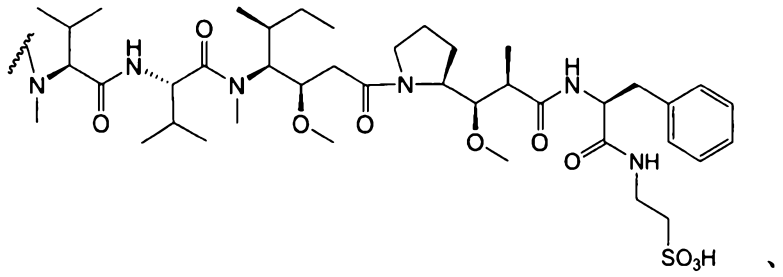

、


、

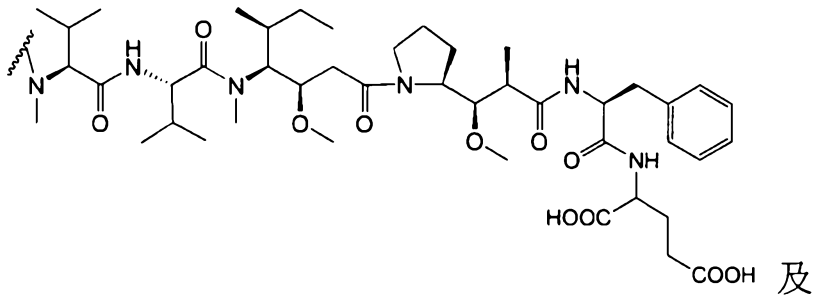

、



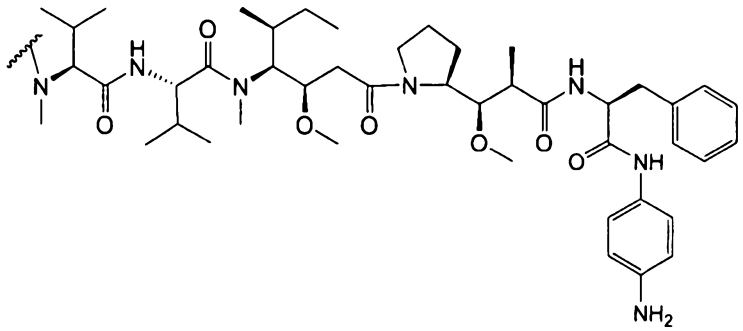
、



、



及

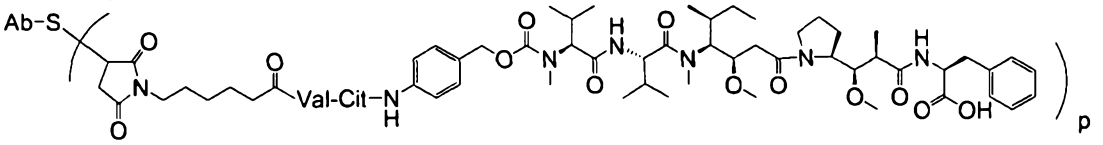


。

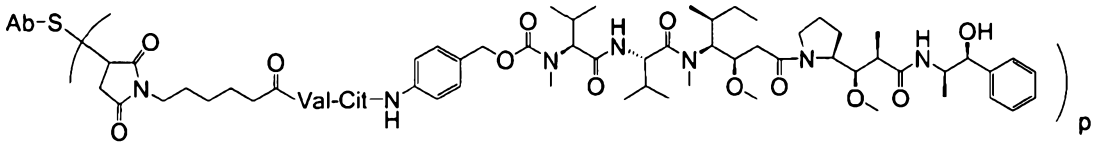
在一態樣中，如上所示，包括(但不限於)三乙二醇酯(TEG)之親水性基團可連接於藥物部分之R^{11}處。在不受任何特定理論約束之情況下，親水性基團有助於藥物部分之內在化及不聚結。

包含奧瑞他汀/海兔毒素或其衍生物之式I之ADC的例示性實施例係描述於US 2005-0238649及Doronina等人(2006) *Bioconjugate Chem.*

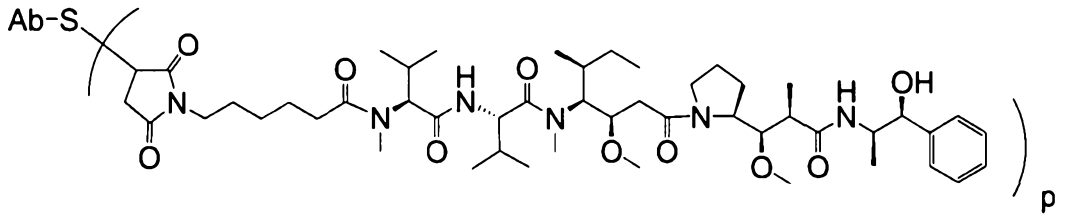
17:114-124中，該等文獻明確地以引用的方式併入本文中。包含MMAE或MMAF及各種連接子組分之式I之ADC的例示性實施例具有下列結構及縮寫(其中"Ab"為抗體；p為1至約8，"Val-Cit"或"vc"為纈胺酸-瓜胺酸二肽；且"S"為硫原子)。應注意，在本文中硫連接之ADC之某些結構描述中，抗體僅以"Ab-S"表示以指示硫連接特徵而不指示特定硫原子帶有多個連接子-藥物部分。下列結構之左括號亦可置於硫原子之左側，介於Ab與S之間，此將為本文通篇所述之本發明之ADC的等同描述。



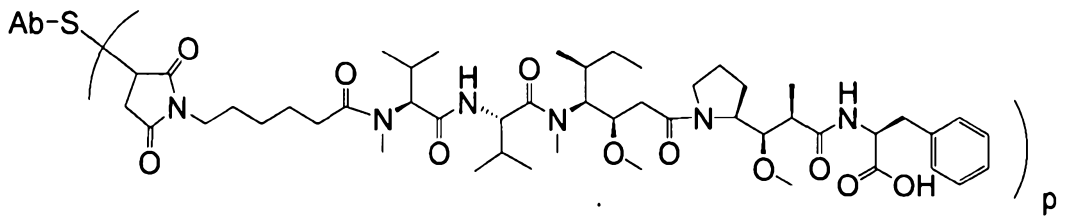
Ab-MC-vc-PAB-MMAF



Ab-MC-vc-PAB-MMAE



Ab-MC-MMAE



Ab-MC-MMAF

包含MMAF及各種連接子組分之式I之ADC的例示性實施例進一步包括Ab-MC-PAB-MMAF及Ab-PAB-MMAF。有趣地是，已顯示包含藉由不可蛋白水解裂解之連接子連接於抗體之MMAF的免疫共軛物具有與包含藉由可蛋白水解裂解之連接子連接於抗體之MMAF的免疫共軛物相當之活性。參見Doronina等人(2006) *Bioconjugate Chem.* 17:114-124。在該等情況下，咸信，藉由抗體在細胞中降解來實現藥物釋放。同前。

通常，基於肽之藥物部分可藉由在兩個或兩個以上胺基酸及/或肽片段之間形成肽鍵來製備。該等肽鍵可例如根據肽化學領域中眾所周知之液相合成方法(參見E. Schröder及K. Lübke, "The Peptides"，第1卷，第76-136頁，1965, Academic Press)來製備。奧瑞他汀/海兔毒素藥物部分可根據下列文獻之方法來製備：US 2005-0238649 A1；美國專利第5635483號；美國專利第5780588號；Pettit等人(1989) *J. Am. Chem. Soc.* 111:5463-5465；Pettit等人(1998) *Anti-Cancer Drug Design* 13:243-277；Pettit, G.R.,等人Synthesis, 1996, 719-725；Pettit等人(1996) *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* 1 5:859-863；及Doronina (2003) *Nat. Biotechnol.* 21(7):778-784。

詳言之，式D_F之奧瑞他汀/海兔毒素藥物部分(諸如MMAF及其衍生物)可使用US 2005-0238649 A1及Doronina等人(2006) *Bioconjugate Chem.* 17:114-124中所述之方法來製備。式D_E之奧瑞他汀/海兔毒素藥物部分(諸如MMAE及其衍生物)可使用Doronina等人(2003) *Nat. Biotech.* 21:778-784中所述之方法來製備。藥物-連接子部分MC-MMAF、MC-MMAE、MC-vc-PAB-MMAF及MC-vc-PAB-MMAE可方便地藉由常規方法合成，例如Doronina等人(2003) *Nat. Biotech.* 21:778-784及專利申請公開案第US 2005/0238649 A1號中所述，且接著與所關注之抗體共軛。

(3)卡奇黴素

在其他實施例中，免疫共軛物包含與一或多個卡奇黴素分子共軛之抗體。卡奇黴素抗生素家族能夠於亞皮莫耳濃度下產生雙股DNA斷裂。關於卡奇黴素家族之共軛物之製備，參見美國專利第5,712,374號、第5,714,586號、第5,739,116號、第5,767,285號、第5,770,701號、第5,770,710號、第5,773,001號、第5,877,296號(均來自American Cyanamid Company)。可使用之卡奇黴素之結構類似物包括(但不限於)γ_1^I、α_2^I、α_3^I、N-乙醯基-γ_1^I、PSAG及θ^I_1(Hinman等人，*Cancer Research* 53:3336-3342 (1993)；Lode等人，*Cancer Research* 58:2925-2928 (1998)；及American Cyanamid之上述美國專利)。抗體可與之共軛之另一抗腫瘤藥物為QFA，其為抗葉酸物。卡奇黴素與QFA兩者皆具有細胞內作用位點且不容易穿越質膜。因此，此等藥劑經由抗體介導性內在化之細胞吸收大大增強其細胞毒性效應。

c.其他細胞毒性劑

可與抗體共軛之其他抗腫瘤劑包括BCNU、鏈佐星、長春新鹼及5-氟尿嘧啶、統稱為LL-E33288複合物之藥劑家族(美國專利第5,053,394號、第5,770,710號中所述)以及埃斯培拉黴素(美國專利第5,877,296號)。

可使用之酶促活性毒素及其片段包括白喉A鏈、白喉毒素之非結合活性片段、外毒素A鏈(來自綠膿桿菌)、篦麻毒素A鏈、相思豆毒素A鏈、莫迪素A鏈、α-帚麴菌素、油桐蛋白、康乃馨蛋白、洋商陸蛋白(PAPI、PAPII及PAP-S)、苦瓜抑制劑、麻楓樹蛋白、巴豆毒素、肥皂草抑制劑、天堂果蛋白、有絲分裂素、侷限麴菌素、酚黴素、伊諾黴素及黴菌毒素。參見例如1993年10月28日公開之WO 93/21232。

本發明進一步涵蓋在抗體與具有溶核活性之化合物(例如核糖核酸酶或DNA核酸內切酶，諸如脫氧核糖核酸酶；DNase)之間形成的

免疫共軛物。

在某些實施例中，免疫共軛物可包含高放射性原子。各種放射性同位素可用於製造放射性共軛抗體。實例包括At^{211}、I^{131}、I^{125}、Y^{90}、Re^{186}、Re^{188}、Sm^{153}、Bi^{212}、P^{32}、Pb^{212}及Lu之放射性同位素。當免疫共軛物用於偵測時，其可包含用於閃爍攝影研究之放射性原子，例如tc^{99m}或I^{123}，或用於核磁共振(NMR)成像(亦稱為磁共振成像，mri)之自旋標記，諸如碘-123、碘-131、銦-111、氟-19、碳-13、氮-15、氧-17、釓、錳或鐵。

放射性標記或其他標記可以已知方式併入免疫共軛物中。舉例而言，肽可用生物學方法合成或可藉由化學胺基酸合成使用包含(例如)氟-19以替代氫之合適胺基酸前驅體來合成。諸如tc^{99m}或I^{123}、Re^{186}、Re^{188}及In^{111}之標記可經由肽中之半胱胺酸殘基連接。釔-90可經由離胺酸殘基連接。IODOGEN方法(Fraker等人(1978) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 80: 49-57)可用於合併碘-123。"Monoclonal Antibodies in Immunoscintigraphy"(Chatal, CRC Press 1989)詳細描述其他方法。

在某些實施例中，免疫共軛物可包含與可使前藥(例如肽基化學治療劑，參見WO 81/01145)轉化為活性藥物(諸如抗癌藥物)之前藥活化酶共軛之抗體。該等免疫共軛物適用於抗體依賴性酶介導前藥療法("ADEPT")。可與抗體共軛之酶包括(但不限於)鹼性磷酸酶，其適用於使含有磷酸酯之前藥轉化為游離藥物；芳基硫酸酯酶，其適用於使含有硫酸酯之前藥轉化為游離藥物；胞嘧啶脫胺酶，其適用於使無毒5-氟胞嘧啶轉化為抗癌藥物5-氟尿嘧啶；蛋白酶，諸如沙雷氏菌(serratia)蛋白酶、嗜熱菌蛋白酶、枯草桿菌蛋白酶、羧基肽酶及組織蛋白酶(諸如組織蛋白酶B及L)，其適用於使含有肽之前藥轉化為游離藥物；D-丙胺醯基羧基肽酶，其適用於轉化含有D-胺基酸取代基之前

藥；碳水化合物裂解酶，諸如β-半乳糖苷酶及神經胺酸酶，其適用於使糖基化前藥轉化為游離藥物；β-內醯胺酶，其適用於使以β-內醯胺衍生化之藥物轉化為游離藥物；及青黴素醯胺酶，諸如青黴素V醯胺酶及青黴素G醯胺酶，其分別適用於使於胺氮處以苯氧基乙醯基或苯乙醯基衍生化之藥物轉化為游離藥物。酶可藉由此項技術中熟知之重組DNA技術與抗體共價結合。參見例如Neuberger等人，*Nature* 312:604-608 (1984)。

d.藥物負荷

藥物負荷係以式I分子中之p(亦即每抗體藥物部分之平均數)表示。藥物負荷可在每抗體1至20個藥物部分(D)之範圍內變化。式I之ADC包括與範圍為1至20個之藥物部分共軛之抗體的集合。來自共軛反應之ADC製劑中每抗體藥物部分之平均數可藉由習知方式表徵，諸如質譜法、ELISA檢定及HPLC。亦可測定以p計之ADC之數量分布。在一些情況下，均質ADC(其中p為某一值)自具有其他藥物負荷之ADC的分離、純化及表徵可藉由諸如逆相HPLC或電泳之方式來達成。因此，式I抗體-藥物共軛物之醫藥調配物可為該等共軛物與連接於1、2、3、4或更多個藥物部分之抗體之異質混合物。

對於一些抗體-藥物共軛物而言，p可能受抗體上之連接位點之數目限制。舉例而言，當如上文例示性實施例中，連接為半胱胺酸硫醇時，抗體可具有僅一個或若干個半胱胺酸硫醇基，或可具有僅一個或若干個具足夠反應性且連接子可連接之硫醇基。在某些實施例中，較高藥物負荷(例如p>5)可引起某些抗體-藥物共軛物之聚集、不溶性、毒性或細胞滲透率損失。在某些實施例中，本發明之ADC之藥物負荷的範圍為1至約8；約2至約6；或約3至約5。實際上，已顯示對於某些ADC而言，每抗體藥物部分之最佳比率可小於8，且可為約2至約5。參見US 2005-0238649 A1。

在某些實施例中，在共軛反應期間比理論最大值少之藥物部分與抗體共軛。如下文所述，抗體可含有(例如)不與藥物-連接子中間物或連接子試劑反應之離胺酸殘基。一般，抗體不含有許多可連接於藥物部分之游離及反應性半胱胺酸硫醇基；實際上，抗體中之大多數半胱胺酸硫醇殘基以二硫橋鍵形式存在。在某些實施例中，可用諸如二硫蘇糖醇(DTT)或三羰基乙基膦(TCEP)之還原劑在部分或完全還原條件下還原抗體以產生反應性半胱胺酸硫醇基。在某些實施例中，使抗體經受變性條件以露出諸如離胺酸或半胱胺酸之反應性親核性基團。

ADC之負荷(藥物/抗體比率)可以不同方式控制，例如藉由以下方式來達成：(i)限制藥物-連接子中間物或連接子試劑相對於抗體之莫耳過量；(ii)限制共軛反應時間或溫度；及(iii)半胱胺酸硫醇修飾之部分或限制還原條件。

應瞭解，當一個以上親核性基團與藥物-連接子中間物或連接子試劑、接著藥物部分試劑反應時，則所得產物為具有一或多個連接於抗體之藥物部分之分布的ADC化合物之混合物。每抗體藥物之平均數可藉由對抗體具特異性且對藥物具特異性之雙重ELISA抗體檢定自混合物計算。個別ADC分子可藉由質譜法在混合物中鑑別出且藉由例如疏水性相互作用層析之HPLC分離(參見例如，McDonagh等人(2006) Prot. Engr. Design & Selection 19(7):299-307；Hamblett等人(2004) Clin. Cancer Res. 10:7063-7070；Hamblett, K.J.,等人"Effect of drug loading on the pharmacology, pharmacokinetics, and toxicity of an anti-CD30 antibody-drug conjugate,"摘要編號624, American Association for Cancer Research, 2004年3月27-31日之2004年年會，Proceedings of the AACR，第45卷，2004年3月；Alley, S.C.,等人"Controlling the location of drug attachment in antibody-drug conjugates,"摘要編號627, American Association for Cancer Research, 2004年3月27-31日之2004年

年會，Proceedings of the AACR，第45卷，2004年3月)。在某些實施例中，具有單一負荷值之均質ADC可藉由電泳或層析自共軛混合物分離。

e.製備免疫共軛物之某些方法

式I之ADC可藉由若干途徑利用熟習此項技術者已知之有機化學反應、條件及試劑來製備，包括：(1)使抗體之親核性基團與二價連接子試劑反應以形成經由共價鍵連接之Ab-L，接著與藥物部分D反應；及(2)使藥物部分之親核性基團與二價連接子試劑反應以形成經由共價鍵連接之D-L，接著與抗體之親核性基團反應。經由後一途徑製備式I之ADC之例示性方法係描述於US 2005-0238649 A1中，該文獻明確地以引用的方式併入本文中。

抗體上之親核性基團包括(但不限於)：(i)N末端胺基；(ii)側鏈胺基，例如離胺酸；(iii)側鏈硫醇基，例如半胱胺酸；及(iv)糖羥基或胺基，其中抗體經糖基化。胺、硫醇及羥基具親核性且能夠與連接子部分及連接子試劑上之親電子基團反應形成共價鍵，該等連接子部分及連接子試劑包括：(i)活性酯，諸如NHS酯、HOBt酯、鹵甲酸酯及醯基鹵；(ii)烷基及苄基鹵化物，諸如鹵乙醯胺；(iii)醛、酮、羧基及順丁烯二醯亞胺基團。某些抗體具有可還原性鏈間二硫鍵，亦即半胱胺酸橋。可使抗體具有反應性以便藉由用諸如DTT(二硫蘇糖醇)或三羰基乙基膦(TCEP)之還原劑處理以至於使抗體完全或部分還原而與連接子試劑共軛。理論上，每一半胱胺酸橋將由此形成兩個反應性硫醇親核體。其他親核性基團可經由修飾離胺酸殘基而引入抗體中，例如藉由使離胺酸殘基與2-亞胺基硫雜環戊烷(特勞特氏試劑(Traut's reagent))反應，從而導致胺轉化為硫醇。反應性硫醇基可藉由引入一個、兩個、三個、四個或更多半胱胺酸殘基而引入抗體中(例如藉由製備包含一或多個非天然半胱胺酸胺基酸殘基之變異抗體)。

本發明之抗體-藥物共軛物亦可藉由抗體上之親電子基團(諸如醛或酮羰基)與連接子試劑或藥物上之親核性基團之間的反應來產生。連接子試劑上之適用親核性基團包括(但不限於)醯肼、肟、胺基、肼、硫代半卡巴腙(thiosemicarbazone)、羧酸肼及芳基醯肼。在一實施例中，修飾抗體以引入能夠與連接子試劑或藥物上之親核性取代基反應之親電子部分。在另一實施例中，糖基化抗體之糖可例如用高碘酸鹽氧化劑氧化，以形成可與連接子試劑或藥物部分之胺基反應的醛或酮基團。所得亞胺席夫鹼(Schiff base)基團可形成穩定鍵，或可例如藉由硼氫化物試劑還原以形成穩定胺鍵。在一實施例中，糖基化抗體之碳水化合物部分與半乳糖氧化酶或偏高碘酸鈉之反應可在抗體中產生可與藥物上之適當基團反應的羰基(醛及酮)基團(Hermanson, Bioconjugate Techniques)。在另一實施例中，含有N末端絲胺酸或蘇胺酸殘基之抗體可與偏高碘酸鈉反應，導致產生醛而非第一胺基酸(Geoghegan & Stroh, (1992) *Bioconjugate Chem.* 3:138-146；US 5362852)。該醛可與藥物部分或連接子親核體反應。

藥物部分上之親核性基團包括(但不限於)：胺、硫醇、羥基、醯肼、肟、肼、硫代半卡巴腙、羧酸肼及芳基醯肼基團，其能夠與連接子部分及連接子試劑上之親電子基團反應形成共價鍵，該等連接子部分及連接子試劑包括：(i)活性酯，諸如NHS酯、HOBt酯、鹵甲酸酯及醯基鹵；(ii)烷基及苄基鹵化物，諸如鹵乙醯胺；(iii)醛、酮、羧基及順丁烯二醯亞胺基團。

本發明之化合物明確地涵蓋(但不限於)用下列交聯劑製備之ADC：BMPS、EMCS、GMBS、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMCC、SMPB、SMPH、磺酸基-EMCS、磺酸基-GMBS、磺酸基-KMUS、磺酸基-MBS、磺酸基-SIAB、磺酸基-SMCC及磺酸基-SMPB以及SVSB(丁二醯亞胺基-(4-乙烯基碸)苯甲酸

酯)，其均為市售的(例如來自Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL., U.S.A；參見2003-2004年應用手冊及目錄，第467-498頁)。

亦可使用各種雙官能蛋白質偶合劑來製造包含抗體及細胞毒性劑之免疫共軛物，該等蛋白質偶合劑諸如N-丁二醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫基)丙酸酯(SPDP)、丁二醯亞胺基-4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1-甲酸酯(SMCC)、亞胺基硫雜環戊烷(IT)、亞胺基酯之雙官能衍生物(諸如己二亞胺二甲酯鹽酸鹽)、活性酯(諸如辛二酸二丁二醯亞胺酯)、醛(諸如戊二醛)、雙疊氮基化合物(諸如雙(對疊氮基苄醯基)己二胺)、雙重氮鎓衍生物(諸如雙-(對重氮鎓苄醯基)-乙二胺)、二異氰酸酯(諸如甲苯2,6-二異氰酸酯)及雙活性氟化合物(諸如1,5-二氟-2,4-二硝基苯)。舉例而言，篦麻毒素免疫毒素可如Vitetta等人，*Science* 238:1098 (1987)中所述來製備。經碳14標記之1-異硫氰酸根苄基-3-甲基二伸乙三胺五乙酸(MX-DTPA)為用於使放射性核苷酸與抗體共軛之例示性螯合劑。參見WO94/11026。

或者，包含抗體及細胞毒性劑之融合蛋白可例如藉由重組技術或肽合成來製造。重組DNA分子可包含編碼共軛物之抗體及細胞毒性部分之區域，其彼此相鄰或由編碼不會破壞共軛物之所需特徵之連接子肽的區域隔開。

在又一實施例中，抗體可與"受體"(諸如抗生蛋白鏈菌素)共軛以用於腫瘤預靶向，其中向患者投與抗體受體共軛物，接著使用清除劑自循環移除未結合之共軛物且接著投與與細胞毒性劑(例如放射性核苷酸)共軛之"配位體"(例如抗生物素蛋白)。

例示性免疫共軛物-Thio-抗體藥物共軛物

a.半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體之製備

編碼本發明之半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體及親本抗-CD79b抗體之胺基酸序列變異體的DNA係藉由各種方法製備，該等方法包括

(但不限於)自天然來源(在天然存在之胺基酸序列變異體之情況下)分離；藉由早先製備之編碼多肽之DNA的定點(或寡核苷酸介導)突變誘發(Carter (1985)等人Nucleic Acids Res. 13:4431-4443；Ho等人(1989) Gene (Amst.) 77:51-59；Kunkel等人(1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:488；Liu等人(1998) J. Biol. Chem. 273:20252-20260)、PCR突變誘發(Higuchi, (1990) in PCR Protocols，第177-183頁，Academic Press；Ito等人(1991) Gene 102:67-70; Bernhard等人(1994) Bioconjugate Chem. 5:126-132；及Vallette等人(1989) Nuc. Acids Res. 17:723-733)及盒突變誘發(Wells等人(1985) Gene 34:315-323)製備。突變誘發方案、套組及試劑為市售的，例如QuikChange®多定點突變誘發套組(Stratagene, La Jolla, CA)。單一突變亦藉由寡核苷酸定向突變誘發使用雙股質體DNA作為模板，藉由基於PCR之突變誘發來產生(Sambrook及Russel, (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual，第3版；Zoller等人(1983) Methods Enzymol. 100:468-500；Zoller, M.J. 及Smith, M. (1982) Nucl. Acids Res. 10:6487-6500)。重組抗體之變異體可亦藉由限制性片段操作或藉由用合成寡核苷酸之重疊延伸PCR來建構。誘變引子編碼半胱胺酸密碼子置換。標準突變誘發技術可用於產生編碼該等突變半胱胺酸工程化抗體之DNA(Sambrook等人Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989；及Ausubel等人Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley-Interscience, New York, N.Y., 1993)。

可使用噬菌體呈現技術(McCafferty等人(1990) Nature 348:552-553)在活體外自未經免疫之供體之免疫球蛋白可變(V)域基因譜系產生抗-CD79b人類抗體及抗體片段。根據此技術，將抗體V域基因同框選殖至絲狀噬菌體(諸如M13或fd)之主要或次要外殼蛋白基因中，且

作為功能性抗體片段呈現於噬菌體顆粒之表面上。因為絲狀顆粒含有噬菌體基因組之單股DNA複本，所以基於抗體之功能特性之選擇亦導致選擇編碼展現彼等特性之抗體之基因。因此，噬菌體模擬B細胞之一些特性(Johnson等人(1993) Current Opinion in Structural Biology 3:564-571；Clackson等人(1991) Nature, 352:624-628；Marks等人(1991) J. Mol. Biol. 222:581-597；Griffith等人(1993) EMBO J. 12:725-734；US 5565332；US 5573905；US 5567610；US 5229275)。

抗-CD79b抗體可使用已知寡肽合成方法以化學方法合成或可使用重組技術製備及純化。適當胺基酸序列或其部分可藉由直接肽合成使用固相技術來產生(Stewart等人，**Solid-Phase Peptide Synthesis**, (1969)W.H. Freeman Co., San Francisco, CA; Merrifield, (1963) J. Am. Chem. Soc., 85:2149-2154)。活體外蛋白質合成可使用手動技術或藉由自動裝置來執行。自動固相合成可例如利用t-BOC或Fmoc保護之胺基酸及使用應用生物系統肽合成器(Foster City, CA)使用製造商之說明書來實現。抗-CD79b抗體或CD79b多肽之各種部分可以化學方法分別合成且使用化學或酶促方法組合以產生所需抗-CD79b抗體或CD79b多肽。

已開發各種技術用於製造抗體片段。傳統上，此等片段係經由完整抗體之蛋白水解消化而得到(Morimoto等人(1992) Journal of Biochemical and Biophysical Methods 24:107-117；及Brennan等人(1985) Science, 229:81)，或直接藉由重組宿主細胞產生。Fab、Fv及ScFv抗-CD79b抗體片段均可在大腸桿菌中表現且自其分泌，因此允許容易地製造大量此等片段。可將抗體片段自本文所論述之抗體噬菌體庫分離。或者，Fab'-SH片段可直接自大腸桿菌回收且使其化學偶合以形成$F(ab')_2$片段(Carter等人(1992) Bio/Technology 10:163-167)，或直接自重組宿主細胞培養物分離。抗-CD79b抗體可為(scFv)單鏈Fv

片段(WO 93/16185；US 5571894；US. 5587458)。抗-CD79b抗體片段亦可為"線性抗體"(US 5641870)。該等線性抗體片段可為單特異性或雙特異性抗體。

以下描述主要係關於藉由培養經含有編碼抗-CD79b抗體之核酸之載體轉型或轉染的細胞產生抗-CD79b抗體。編碼抗-CD79b抗體之DNA可自由咸信具有抗-CD79b抗體mRNA且以可偵測量表現該mRNA之組織製備的cDNA庫獲得。因此，人類抗-CD79b抗體或CD79b多肽DNA可方便地自由人類組織製備之cDNA庫獲得。編碼抗-CD79b抗體之基因亦可自染色體組庫獲得或藉由已知合成程序(例如自動核酸合成)獲得。

本發明之設計、選擇及製備方法使半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體能夠與親電子官能基反應。此等方法進一步使諸如抗體-藥物共軛物(ADC)化合物之抗體共軛物化合物能夠於指定、設計、選擇位點處具有藥物分子。抗體表面上之反應性半胱胺酸殘基允許經由諸如順丁烯二醯亞胺或鹵乙醯基之硫醇反應性基團而特異性共軛藥物部分。Cys殘基之硫醇官能基對順丁烯二醯亞胺基團之親核反應性與蛋白質中之任何其他胺基酸官能基(諸如，離胺酸殘基之胺基或N末端胺基)相比高約1000倍。雖然碘乙醯基及順丁烯二醯亞胺試劑中之硫醇特異性官能基可與胺基反應，但需要較高pH值(>9.0)及較長反應時間(Garman, 1997, Non-Radioactive Labelling: A Practical Approach, Academic Press, London)。蛋白質中游離硫醇之量可藉由標準愛耳門氏檢定(Ellman's assay)來估計。免疫球蛋白M為二硫鍵連接五聚體之一實例，而免疫球蛋白G為具有將亞單元結合在一起之內部二硫橋之蛋白質的一實例。在諸如此類之蛋白質中，需要用諸如二硫蘇糖醇(DTT)或硒醇之試劑還原二硫鍵(Singh等人(2002) Anal. Biochem. 304:147-156)以產生反應性游離硫醇。此方法可能導致抗體三級結構

及抗原結合特異性受損。

PHESELECTOR(用於選擇反應性硫醇之噬菌體ELISA)檢定允許偵測呈ELISA噬菌體形式之抗體中之反應性半胱胺酸基團，藉此有助於設計半胱胺酸工程化抗體(Junutula, J.R.等人(2008) J Immunol Methods 332:41-52；WO 2006/034488；US 2007/0092940)。將半胱胺酸工程化抗體塗覆於孔表面上，接著與噬菌體顆粒一起培養，添加HRP標記之第二抗體，且偵測吸光度。呈現於噬菌體上之突變蛋白質可以快速、穩固且高產量方式篩選。可產生半胱胺酸工程化抗體之庫且使其經受使用相同方法之結合選擇以自抗體或其他蛋白質之隨機蛋白質-噬菌體庫中鑑別游離Cys併入之適當反應性位點。此技術包括使呈現於噬菌體上之半胱胺酸突變蛋白質與亦具硫醇反應性之親和力試劑或報導基團反應。

PHESELECTOR檢定允許篩選抗體中之反應性硫醇基。藉由此方法鑑別A121C變異體為例示性的。可有效研究整個Fab分子以鑑別更多具有反應性硫醇基之ThioFab變異體。使用參數(亦即表面可及性分數)來鑑別及定量溶劑對多肽中之胺基酸殘基之可及性。表面可及性可以能夠由溶劑分子(例如水)接觸之表面面積($Å^2$)表示。水之佔據空間近似為1.4 Å半徑球體。軟體為可免費獲得的或可獲許可的(Secretary to CCP4, Daresbury Laboratory, Warrington, WA4 4AD, United Kingdom，傳真：(+44) 1925 603825，或藉由網際網路：www.ccp4.ac.uk/dist/html/INDEX.html)，如結晶學程式之CCP4 Suite，其利用算法以已知的X-射線結晶術得到之座標計算蛋白質之各胺基酸之表面可及性("The CCP4 Suite: Programs for Protein Crystallography" (1994) Acta. Cryst. D50:760-763)。兩個執行表面可及性計算之例示性軟體模組為"AREAIMOL"及"SURFACE"，其基於B.Lee及F.M.Richards (1971) J.Mol.Biol. 55:379-400之算法。

AREAIMOL將蛋白質之溶劑可及表面定義為探針球(表示溶劑分子)當其在蛋白質之凡得瓦爾(Van der Waals)表面上滾動時之中心軌跡。AREAIMOL藉由在各原子周圍(距離原子中心等於原子及探針半徑之總和之距離處)之延伸球體上產生表面點，且除去位於與相鄰原子相關之等效球體內之彼等者來計算溶劑可及表面面積。AREAIMOL在PDB座標文件中得到原子之溶劑可及面積，且總結殘基、鏈及整個分子之可及面積。個別原子之可及面積(或面積差異)可寫入擬PDB輸出文件中。AREAIMOL假設各元素之單一半徑，且僅識別有限數目之不同元素。

AREAIMOL及SURFACE報導絕對可及性，亦即埃(Å)平方數。參考多肽內胺基酸相關之標準狀態來計算表面可及性分數。參考狀態為三肽Gly-X-Gly，其中X為所關注之胺基酸，且參考狀態應為'延伸'構形，亦即類似β股中之彼等者。延伸構形使X之可及性達到最大。將計算出之可及面積除以Gly-X-Gly三肽參考狀態之可及面積且記錄商，其為可及性分數。可及性百分數為可及性分數乘以100。另一用於計算表面可及性之例示性算法係基於程式xsae之SOLV模組(Broger, C., F. Hoffman-LaRoche, Basel)，其基於多肽之X射線座標計算胺基酸殘基與水球體之可及性分數。抗體中每個胺基酸之表面可及性分數可使用可得到之晶體結構資訊來計算(Eigenbrot等人(1993) J Mol Biol. 229:969-995)。

使用習知程序(例如，藉由使用能夠特異性結合於編碼鼠類抗體之重鏈及輕鏈之基因的寡核苷酸探針)來容易地將編碼半胱胺酸工程化抗體之DNA分離及定序。融合瘤細胞用作該DNA之來源。在分離後，可將DNA置於表現載體中，接著將其轉染至不以其他方式產生抗體蛋白之宿主細胞中，該等宿主細胞諸如大腸桿菌細胞、猿COS細胞、中國倉鼠卵巢(CHO)細胞或其他哺乳動物宿主細胞，諸如骨髓瘤

細胞(US 5807715；US 2005/0048572；US 2004/ 0229310)，以獲得單株抗體在重組宿主細胞中之合成。

在設計及選擇後，具有經工程化、高反應性之未配對Cys殘基(亦即"游離半胱胺酸胺基酸")之半胱胺酸工程化抗體(例如ThioFab)可藉由以下步驟產生：(i)在細菌(例如大腸桿菌)系統(Skerra等人(1993) Curr. Opinion in Immunol. 5:256-262；Plückthun (1992) Immunol. Revs. 130:151-188)或哺乳動物細胞培養系統(WO 01/00245)(例如中國倉鼠卵巢(CHO)細胞)中表現；及(ii)使用常見蛋白質純化技術純化(Lowman等人(1991) J. Biol. Chem. 266(17):10982-10988)。

工程化Cys硫醇基與親電子連接子試劑及藥物-連接子中間物反應以形成半胱胺酸工程化抗體藥物共軛物及其他經標記之半胱胺酸工程化抗體。半胱胺酸工程化抗體以及存在於親本抗體中之經配對且形成鏈間及鏈內二硫鍵的Cys殘基並不具有任何反應性硫醇基(除非用還原劑處理)且並不與親電子連接子試劑或藥物-連接子中間物反應。新工程化Cys殘基可保持未配對，且能夠與親電子連接子試劑或藥物-連接子中間物(諸如藥物-順丁烯二醯亞胺)反應(亦即與之共軛)。例示性藥物-連接子中間物包括：MC-MMAE、MC-MMAF、MC-vc-PAB-MMAE及MC-vc-PAB-MMAF。重鏈及輕鏈之工程化Cys殘基之結構位置係根據序列編號系統進行編號。此序列編號系統與Kabat編號系統(Kabat等人，(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest，第5版Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD)有關，起始於N末端，與Kabat編號方案(底列)不同之處在於以a、b、c表示插入。使用Kabat編號系統，實際線性胺基酸序列可能含有對應於可變域之FR或CDR之縮短或插入的較少或額外胺基酸。半胱胺酸工程化重鏈變異位點係藉由序列編號及Kabat編號方案鑑別。

在一實施例中，半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體係藉由包含下列

步驟之方法來製備：

(a)由半胱胺酸置換親本抗-CD79b抗體之一或多個胺基酸殘基；及

(b)藉由使半胱胺酸工程化抗體與硫醇反應性試劑反應來測定半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體之硫醇反應性。

半胱胺酸工程化抗體與硫醇反應性試劑之反應性可比親本抗體與硫醇反應性試劑之反應性大。

游離半胱胺酸胺基酸殘基可位於重鏈或輕鏈中，或位於恆定域或可變域中。例如Fab之抗體片段亦可以一或多個半胱胺酸胺基酸置換抗體片段之胺基酸來工程化，以形成半胱胺酸工程化抗體片段。

本發明之另一實施例提供一種製備(製造)半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體之方法，其包含：

(a)將一或多個半胱胺酸胺基酸引入親本抗-CD79b抗體中以產生半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體；及

(b)測定半胱胺酸工程化抗體與硫醇反應性試劑之硫醇反應性；

其中半胱胺酸工程化抗體與硫醇反應性試劑之反應性比親本抗體與硫醇反應性試劑之反應性大。

該製備半胱胺酸工程化抗體之方法之步驟(a)可包含：

(i)誘發編碼半胱胺酸工程化抗體之核酸序列突變；

(ii)表現半胱胺酸工程化抗體；及

(iii)分離且純化半胱胺酸工程化抗體。

該製備半胱胺酸工程化抗體之方法之步驟(b)可包含於選自噬菌體或噬粒顆粒之病毒顆粒上表現半胱胺酸工程化抗體。

該製備半胱胺酸工程化抗體之方法之步驟(b)亦可包含：

(i)使半胱胺酸工程化抗體與硫醇反應性親和力試劑反應以產生親和力標記之半胱胺酸工程化抗體；及

(ii)量測親和力標記之半胱胺酸工程化抗體與捕捉培養基之結合。

本發明之另一實施例為一種針對硫醇反應性篩選具有高反應性、未配對之半胱胺酸胺基酸之半胱胺酸工程化抗體的方法，其包含：

(a)將一或多個半胱胺酸胺基酸引入親本抗體中以產生半胱胺酸工程化抗體；

(b)使半胱胺酸工程化抗體與硫醇反應性親和力試劑反應以產生親和力標記之半胱胺酸工程化抗體；及

(c)量測親和力標記之半胱胺酸工程化抗體與捕捉培養基之結合；及

(d)測定半胱胺酸工程化抗體與硫醇反應性試劑之硫醇反應性。

該篩選半胱胺酸工程化抗體之方法之步驟(a)可包含：

(i)誘發編碼半胱胺酸工程化抗體之核酸序列突變；

(ii)表現半胱胺酸工程化抗體；及

(iii)分離且純化半胱胺酸工程化抗體。

該篩選半胱胺酸工程化抗體之方法之步驟(b)可包含於選自噬菌體或噬粒顆粒之病毒顆粒上表現半胱胺酸工程化抗體。

該篩選半胱胺酸工程化抗體之方法之步驟(b)亦可包含：

(i)使半胱胺酸工程化抗體與硫醇反應性親和力試劑反應以產生親和力標記之半胱胺酸工程化抗體；及

(ii)量測親和力標記之半胱胺酸工程化抗體與捕捉培養基之結合。

b.抗-CD79b IgG變異體之半胱胺酸工程化

藉由本文所述之半胱胺酸工程化方法將半胱胺酸於重鏈118(EU編號)(相當於重鏈位置118，序列編號)位點處引入全長、嵌合親本單

株抗-CD79b抗體中或於輕鏈205(Kabat編號)(相當於輕鏈位置209，序列編號)位點處引入全長、嵌合親本單株抗-CD79b抗體中。

所產生之於重鏈118(EU編號)處具有半胱胺酸之半胱胺酸工程化抗體為：(a)具有重鏈序列(SEQ ID NO: 228)及輕鏈序列(SEQ ID NO: 229)之thio-MA79b.v17-HC(A118C)，圖24；(b)具有重鏈序列(SEQ ID NO: 230)及輕鏈序列(SEQ ID NO: 231)之thio-MA79b.v18-HC(A118C)，圖25；(c)具有重鏈序列(SEQ ID NO: 232)及輕鏈序列(SEQ ID NO: 233)之thio-MA79b.v28-HC(A118C)，圖26；(d)具有重鏈序列(SEQ ID NO: 236)及輕鏈序列(SEQ ID NO: 237)之thio-MA79b-HC(A118C)，圖28；及(e)具有重鏈序列(SEQ ID NO: 244)及輕鏈序列(SEQ ID NO: 245)之thio-抗-cynoCD79b-HC(A118C)，圖48。

所產生之於輕鏈205(Kabat編號)處具有半胱胺酸之半胱胺酸工程化抗體為：(a)具有重鏈序列(SEQ ID NO: 234)及輕鏈序列(SEQ ID NO: 235)之thio-MA79b-LC(V205C)，圖27；及(b)具有重鏈序列(SEQ ID NO: 299)及輕鏈序列(SEQ ID NO: 300)之thio-抗-cynoCD79b(ch10D10)-LC(V205C)，圖49。

此等半胱胺酸工程化單株抗體係藉由在含有1 mM半胱胺酸之培養基中短暫醱酵而表現於CHO(中國倉鼠卵巢)細胞中。

根據一實施例，人類化MA79b半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體包含下列具有游離半胱胺酸胺基酸之重鏈序列(SEQ ID NO: 251-259，表2)中之一或多者。

表2：人類化MA79b半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體變異體之重鏈序列、Kabat及EU編號之比較

序列	序列編號	KABAT編號	EU編號	SEQ ID NO:
EVQLCESGGG	V5C	V5C		251
LRLSCCASGYT	A23C	A23C		252

MNSLRCEDTAV	A88C	A84C		253
TLVTVCSASTK	S116C	S112C		254
VTVSSCSTKGP	A118C	A114C	A118C	255
VSSASCKGPSV	T120C	T116C	T120C	256
WYVDGCEVHNA	V282C	V278C	V282C	257
KGFYPCDIAVE	S375C	S371C	S375C	258
PPVLDCDGSFF	S400C	S396C	S400C	259

根據一實施例，嵌合MA79b半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體包含下列具有游離半胱胺酸胺基酸之重鏈序列(SEQ ID NO: 260-268，表3)中之一或多者。

表3：chMA79b半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體變異體之重鏈序列、Kabat及EU編號之比較

序列	序列編號	**KABAT編號**	**EU編號**	**SEQ ID NO:**
EVQLCQSGAE	Q5C	Q5C		260
VKISCCATGYT	K23C	K23C		261
LSSLTCEDSAV	S88C	S84C		262
TSVTVCSASTK	S116C	S112C		263
VTVSSCSTKGP	A118C	A114C	A118C	264
VSSASCKGPSV	T120C	T116C	T120C	265
WYVDGCEVHNA	V282C	V278C	V282C	266
KGFYPCDIAVE	S375C	S371C	S375C	267
PPVLDCDGSFF	S400C	S396C	S400C	268

根據一實施例，抗-cynoCD79b(ch10D10)半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體包含下列具有游離半胱胺酸胺基酸之重鏈序列(SEQ ID NO: 269-277，表4)中之一或多者。

表4：抗-cynoCD79b(ch10D10)半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體變異體之重鏈序列、Kabat及EU編號之比較

序列	序列編號	KABAT編號	EU編號	SEQ ID NO:
EVQLCESGPG	Q5C	Q5C		269
LSLTCCVTGYS	T23C	T23C		270

LNSVTCEDTAT	S88C	S84C		271
TTLTVCSASTK	S111C	S112C		272
LTVSSCSTKGP	A113C	A114C	A118C	273
VSSASCKGPSV	T115C	T116C	T120C	274
WYVDGCEVHNA	V282C	V278C	V282C	275
KGFYPCDIAVE	S370C	S371C	S375C	276
PPVLDCDGSFF	S395C	S396C	S400C	277

根據一實施例，人類化MA79b半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體包含下列具有游離半胱胺酸胺基酸之輕鏈序列(SEQ ID NO: 278-284，表5)中之一或多者。

圖5：人類化MA79b半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體變異體之輕鏈序列及Kabat編號之比較

序列	序列編號	KABAT編號	SEQ ID NO:
SLSASCGDRVT	V15C	V15C	278
EIKRTCAAPSV	V114C	V110C	279
TVAAPCVFIFP	S118C	S114C	280
FIFPPCDEQLK	S125C	S121C	281
DEQLKCGTASV	S131C	S127C	282
VTEQDCKDSTY	S172C	S168C	283
GLSSPCTKSFN	V209C	V205C	284

根據一實施例，嵌合MA79b半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體包含下列具有游離半胱胺酸胺基酸之輕鏈序列(SEQ ID NO: 285-291，表6)中之一或多者。

圖6：嵌合MA79b半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體變異體之輕鏈序列及Kabat編號之比較

序列	序列編號	KABAT編號	SEQ ID NO:
SLAVSCGQRAT	L15C	L15C	285
ELKRTCAAPSV	V114C	V110C	286
TVAAPCVFIFP	S118C	S114C	287
FIFPPCDEQLK	S125C	S121C	288

DEQLKCGTASV	S131C	S127C	289
VTEQDCKDSTY	S172C	S168C	290
GLSSPCTKSFN	V209C	V205C	291

根據一實施例，抗-cynoCD79b(ch10D10)半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體包含下列具有游離半胱胺酸胺基酸之輕鏈序列(SEQ ID NO: 292-298，表7)中之一或多者。

圖7：抗-cynoCD79b(ch10D10)半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體變異體之輕鏈序列及Kabat編號之比較

序列	序列編號	KABAT編號	SEQ ID NO:
SLAVSCGQRAT	L15C	L15C	292
EIKRTCAAPSV	V114C	V110C	293
TVAAPCVFIFP	S118C	S114C	294
FIFPPCDEQLK	S125C	S121C	295
DEQLKCGTASV	S131C	S127C	296
VTEQDCKDSTY	S172C	S168C	297
GLSSPCTKSFN	V209C	V205C	298

c.經標記之半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體

半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體可位點特異性地及有效地與硫醇反應性試劑偶合。硫醇反應性試劑可為多官能連接子試劑、捕捉(亦即親和力)標記試劑(例如，生物素-連接子試劑)、偵測標記(例如螢光團試劑)、固相固定試劑(例如SEPHAROSE™、聚苯乙烯或玻璃)或藥物-連接子中間物。硫醇反應性試劑之一實例為N-乙基順丁烯二醯亞胺(NEM)。在一例示性實施例中，ThioFab與生物素-連接子試劑之反應提供生物素標記之ThioFab，可藉由該生物素標記之ThioFab偵測及量測工程化半胱胺酸殘基之存在及反應性。ThioFab與多官能連接子試劑之反應提供具有官能化連接子之ThioFab，其可進一步與藥物部分試劑或其他標記反應。ThioFab與藥物-連接子中間物之反應提供ThioFab藥物共軛物。

此處所述之例示性方法一般可應用於抗體之鑑別及製造，且更一般地，經由應用本文所述之設計及篩選步驟而應用於其他蛋白質。

此類方法可應用於其他硫醇反應性試劑之共軛，其中反應性基團為(例如)順丁烯二醯亞胺、碘乙醯胺、吡啶基二硫化物或其他硫醇反應性共軛搭配物(Haugland, 2003, Molecular Probes Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals, Molecular Probes, Inc.；Brinkley, 1992, Bioconjugate Chem. 3:2；Garman, 1997, Non-Radioactive Labelling: A Practical Approach, Academic Press, London；Means (1990) Bioconjugate Chem. 1:2；Hermanson, G. in Bioconjugate Techniques (1996) Academic Press, San Diego，第40-55頁，第643-671頁)。硫醇反應性試劑可為藥物部分、螢光團(諸如螢光染料，如螢光素或若丹明)、成像或放射性治療金屬之螯合劑、肽基或非肽基標記或偵測標籤或清除調節劑(諸如，聚乙二醇之各種異構體、結合於第三組分之肽或另一碳水化合物或親脂性藥劑)。

d.半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體之用途

半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體及其共軛物可用作治療及/或診斷藥劑。本發明進一步提供預防、控制、治療或改善一或多個與B細胞相關病症相關之症狀之方法。詳言之，本發明提供預防、控制、治療或改善一或多個與細胞增生性病症相關之症狀之方法，該細胞增生性病症諸如癌症，例如淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、侵襲性NHL、復發性侵襲性NHL、復發性惰性NHL、難治性NHL、難治性惰性NHL、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、小淋巴細胞性淋巴瘤、白血病、毛細胞白血病(HCL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)及套細胞淋巴瘤。本發明更進一步提供診斷CD79b相關病症或患上此類病症之傾向之方法，以及鑑別優先結合B細胞相關CD79b多肽之抗體及抗體之抗原結合片段的方法。

本發明之另一實施例係針對半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體用於製備適用於治療對B細胞相關病症有反應之病狀之藥劑的用途。

e.半胱胺酸工程化抗體藥物共軛物(Thio-抗體藥物共軛物(TDC))

本發明之另一態樣為一種抗體-藥物共軛物化合物，其包含半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體(Ab)及奧瑞他汀藥物部分(D)，其中該半胱胺酸工程化抗體係藉由連接子部分(L)經由一或多個游離半胱胺酸胺基酸連接於D；該化合物具有式I：

$Ab-(L-D)_p$ I

其中p為1、2、3或4；且其中半胱胺酸工程化抗體係藉由包含由一或多個游離半胱胺酸胺基酸置換親本抗-CD79b抗體之一或多個胺基酸殘基之方法來製備。

本發明之另一態樣為一種包含式I之抗體-藥物化合物之混合物的組合物，其中每抗體平均藥物負荷為約2至約5，或約3至約4。

圖24-28及圖48-49展示半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體藥物共軛物(ADC)之實施例，其中奧瑞他汀藥物部分連接於輕鏈(LC-ADC)或重鏈(HC-ADC)中之工程化半胱胺酸基團。

半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體藥物共軛物之潛在優點包括安全性得到改善(較大治療指數)；PK參數得到改善；可使共軛物穩定且保留活性結合構形之抗體鏈間二硫鍵得到保留；藥物共軛位點得到確定；及由半胱胺酸工程化抗體與藥物-連接子試劑之共軛製備半胱胺酸工程化抗體藥物共軛物產生較為均質之產物。

連接子

"連接子"、"連接單元"或"連接"意謂使抗體共價連接於藥物部分之包含共價鍵或原子鏈之化學部分。在各種實施例中，連接子係以L表示。"連接子"(L)為可用於連接一或多個藥物部分(D)及抗體單元(Ab)以形成式I之抗體-藥物共軛物(ADC)之雙官能或多官能部分。抗

體-藥物共軛物(ADC)可方便地使用具有結合於藥物及抗體之反應性官能基之連接子來製備。半胱胺酸工程化抗體(Ab)之半胱胺酸硫醇可與連接子試劑、藥物部分或藥物-連接子中間物之親電子官能基形成鍵。

在一態樣中，連接子具有反應性位點，該位點具有對存在於抗體上之親核性半胱胺酸具反應性之親電子基團。抗體之半胱胺酸硫醇可與連接子上之親電子基團反應且形成連接於連接子之共價鍵。適用親電子基團包括(但不限於)順丁烯二醯亞胺及鹵乙醯胺基團。

連接子包括二價基團，諸如烷二基、伸芳基、雜伸芳基、諸如-$(CR_2)_nO(CR_2)_n$-之部分、烷氧基(例如聚伸乙基氧基、PEG、聚亞甲基氧基)及烷基胺基(例如聚伸乙基胺基、Jeffamine™)之重複單元；以及二元酸酯及醯胺類，包括丁二酸酯、丁二酸醯胺、二乙醇酸酯、丙二酸酯及己醯胺。

根據Klussman等人(2004), Bioconjugate Chemistry 15(4):765-773之第766頁之共軛方法及根據實例6之方案，半胱胺酸工程化抗體與連接子試劑或藥物-連接子中間物反應，與諸如順丁烯二醯亞胺或α-鹵基羰基之親電子官能基反應。

連接子可由一或多個連接子組分構成。例示性連接子組分包括6-順丁烯二醯亞胺基己醯基("MC")、順丁烯二醯亞胺基丙醯基("MP")、纈胺酸-瓜胺酸("val-cit"或"vc")、丙胺酸-苯丙胺酸("ala-phe"或"af")、對胺基苄氧羰基("PAB")、4-(2-吡啶基硫基)戊酸N-丁二醯亞胺酯("SPP")、4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1甲酸N-丁二醯亞胺酯("SMCC")、(4-碘-乙醯基)胺基苯甲酸N-丁二醯亞胺酯("SIAB")、作為一或多個重複單元之伸乙基氧基-CH_2CH_2O-("EO"或"PEO")。其他連接子組分在此項技術中係已知的且一些在本文中有描述。

在一實施例中，ADC之連接子L具有下式：

$$—A_a—W_w—Y_y—$$

其中：

-A-為共價連接於抗體(Ab)之半胱胺酸硫醇之延展基單元；

a為0或1；

-W-各自獨立地為胺基酸單元；

w獨立地為範圍為0至12之整數；

-Y-為共價連接於藥物部分之間隔基單元；且

y為0、1或2。

延展基單元

延展基單元(-A-)在存在時能夠使抗體單元連接於胺基酸單元(-W-)。就此而言，抗體(Ab)具有可與延展基之官能基形成鍵之官能基。可天然地或經由化學操作存在於抗體上之適用官能基包括(但不限於)硫氫基(-SH)、胺基、羥基、羧基、碳水化合物之變旋異構性羥基及羧基。在一態樣中，抗體官能基為硫氫基或胺基。硫氫基可藉由還原抗體之分子內二硫鍵而產生。或者，硫氫基可藉由使用2-亞胺基硫雜環戊烷(特勞特氏試劑)或另一硫氫基生成劑使抗體之離胺酸部分之胺基反應來產生。在一實施例中，抗體(Ab)具有可與延展基單元之親電子官能基形成鍵之游離半胱胺酸硫醇基。式I共軛物中之例示性延展基單元係以式II及III所示，其中Ab-、-W-、-Y-、-D、w及y係如上文所定義，且R^{17}為選自下列各者之二價基團：$(CH_2)_r$、C_3-C_8碳環基、O-$(CH_2)_r$、伸芳基、$(CH_2)_r$-伸芳基、-伸芳基-$(CH_2)_r$-、$(CH_2)_r$-(C_3-C_8碳環基)、(C_3-C_8碳環基)-$(CH_2)_r$、C_3-C_8雜環基、$(CH_2)_r$-(C_3-C_8雜環基)、-(C_3-C_8雜環基)-$(CH_2)_r$-、-$(CH_2)_rC(O)NR^b(CH_2)_r$-、-$(CH_2CH_2O)_r$-、-$(CH_2CH_2O)_r$-CH_2-、-$(CH_2)_rC(O)NR^b(CH_2CH_2O)_r$-、-$(CH_2)_rC(O)NR^b(CH_2CH_2O)_r$-$CH_2$-、-$(CH_2CH_2O)_rC(O)NR^b(CH_2CH_2O)_r$-、-$(CH_2CH_2O)_rC(O)NR^b(CH_2CH_2O)_r$-$CH_2$-及-

$(CH_2CH_2O)_rC(O)NR^b(CH_2)_r$-；其中$R^b$為H、$C_1$-$C_6$烷基、苯基或苄基；且r獨立地為範圍為1-10之整數。

伸芳基包括藉由自芳族環系統移除兩個氫原子所得到之6-20個碳原子之二價芳族烴基。典型伸芳基包括(但不限於)源自苯、經取代之苯、萘、蒽、聯苯及其類似基團之基團。

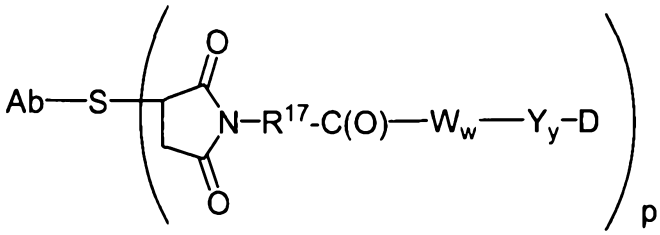
雜環基包括其中一或多個環原子為例如氮、氧及硫之雜原子之環系統。雜環基團包含1至20個碳原子及1至3個選自N、O、P及S之雜原子。雜環可為具有3至7個環成員(2至6個碳原子及1至3個選自N、O、P及S之雜原子)之單環或具有7至10個環成員(4至9個碳原子及1至3個選自N、O、P及S之雜原子)之雙環，例如：雙環[4,5]、[5,5]、[5,6]或[6,6]系統。雜環係描述於以下文獻中：Paquette, Leo A.；"Principles of Modern Heterocyclic Chemistry"(W.A. Benjamin, New York, 1968)，尤其第1、3、4、6、7及9章；"The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A series of Monographs"(John Wiley & Sons, New York, 1950 to present)，尤其第13、14、16、19及28卷；及J. Am. Chem. Soc. (1960) 82:5566。

雜環之實例包括(舉例而言，但不限於)吡啶基、二氫吡啶基、四氫吡啶基(哌啶基)、噻唑基、四氫噻吩基、硫氧化四氫噻吩基、嘧啶基、呋喃基、噻吩基、吡咯基、吡唑基、咪唑基、四唑基、苯并呋喃基、噻萘基(thianaphthalenyl)、吲哚基、吲哚烯基(indolenyl)、喹啉基、異喹啉基、苯并咪唑基、哌啶基、4-哌啶酮基、吡咯啶基、2-吡咯啶酮基、吡咯啉基、四氫呋喃基、雙-四氫呋喃基、四氫哌喃基、雙-四氫哌喃基、四氫喹啉基、四氫異喹啉基、十氫喹啉基、八氫異喹啉基、吖辛因基、三嗪基、6H-1,2,5-噻二嗪基、2H,6H-1,5,2-二噻嗪基、噻吩基、噻嗯基、哌喃基、異苯并呋喃基、吃烯基、吙基、啡噁噻基、2H-吡咯基、異噻唑基、異噁唑基、吡嗪基、噠嗪基、吲嗪

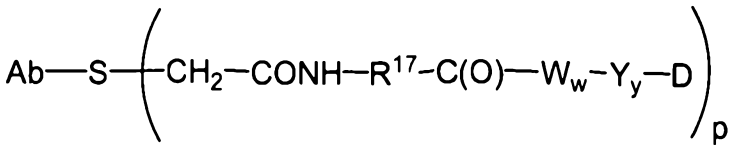
基、異吲哚基、3H-吲哚基、1H-吲唑基、嘌呤基、4H-喹嗪基、酞嗪基、喋啶基、喹喏啉基、喹唑啉基、啡啉基、喋啶基、4Ah-咔唑基、咔唑基、β-咔啉基、啡啶基、吖啶基、嘧啶基、啡啉基、啡嗪基、啡噻嗪基、呋吖基、啡噁嗪基、異吲哚基、吲哚基、咪唑啶基、咪唑啉基、吡唑啶基、吡唑啉基、哌嗪基、吲哚啉基、異吲哚啉基、哌啶基、嗎啉基、噁唑啶基、苯并三唑基、苯并異噁唑基、羥基吲哚基、苯并噁唑啉基及靛紅醯基(isatinoyl)。

碳環基包括具有3至7個碳原子作為單環或具有7至12個碳原子作為雙環之飽和或不飽和環。單環碳環具有3至6個環原子，更通常為5或6個環原子。雙環碳環具有7至12個環原子，例如排列為雙環[4,5]、[5,5]、[5,6]或[6,6]系統，或具有9或10個環原子，其排列為雙環[5,6]或[6,6]系統。單環碳環之實例包括(但不限於)環丙基、環丁基、環戊基、1-環戊-1-烯基、1-環戊-2-烯基、1-環戊-3-烯基、環己基、1-環己-1-烯基、1-環己-2-烯基、1-環己-3-烯基、環庚基及環辛基。

自式I ADC之所有例示性實施例(諸如II-VI)應瞭解，即使未明確表示，亦將1至4個藥物部分連接於抗體(p=1-4)，此視工程化半胱胺酸殘基之數目而定。



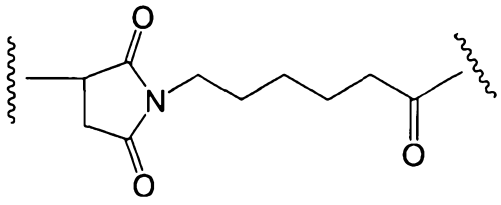
II



III

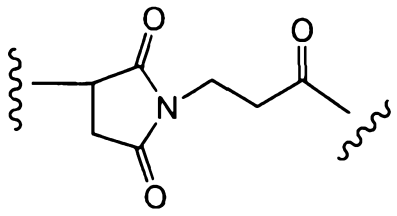
例示性式II延展基單元係源自順丁烯二醯亞胺基-己醯基(MC)，

其中R^{17}為$-(CH_2)_5-$：



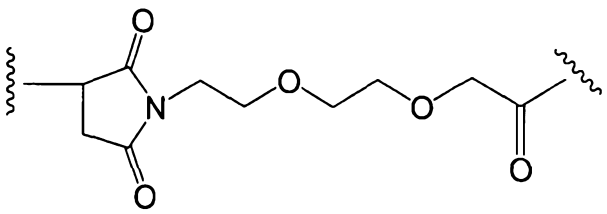
MC

例示性式II延展基單元係源自順丁烯二醯亞胺基-丙醯基(MP)，其中R^{17}為$-(CH_2)_2-$：

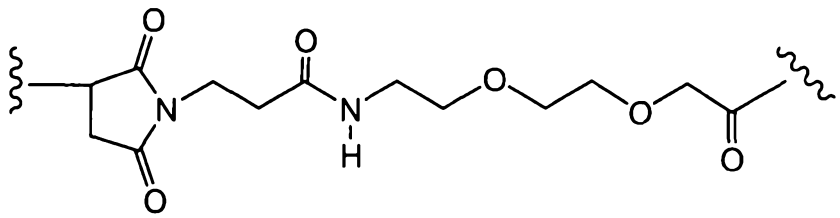


MP

另一例示性式II延展基單元，其中R^{17}為$-(CH_2CH_2O)_r-CH_2-$且r為2：

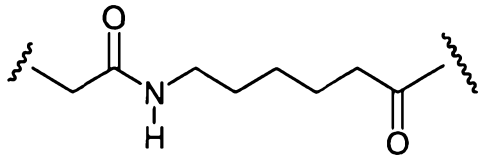


另一例示性式II延展基單元，其中R^{17}為$(CH_2)_rC(O)NR^b(CH_2CH_2O)_r-CH_2-$，其中$R^b$為H且r各自為2：

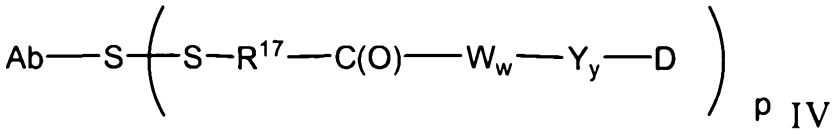


MPEG

例示性式III延展基，其中R^{17}為$-(CH_2)_5-$：

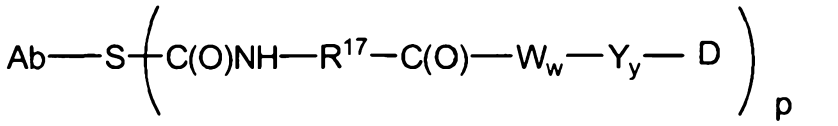


在另一實施例中，延展基單元經由抗體之工程化半胱胺酸硫原子與延展基單元之硫原子之間的二硫鍵連接於半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體。此實施例之代表性延展基單元係以式IV所示，其中R^{17}、Ab-、-W-、-Y-、-D、w及y如上文所定義。

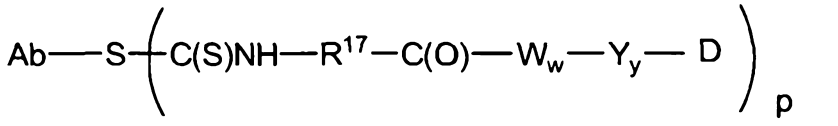


IV

在又一實施例中，延展基之反應性基團含有可與抗體之游離半胱胺酸硫醇形成鍵之硫醇反應性官能基。硫醇反應官能基之實例包括(但不限於)順丁烯二醯亞胺、α-鹵乙醯基、活化酯(諸如丁二醯亞胺酯、4-硝基苯酯、五氟苯酯、四氟苯酯)、酸酐、酸氯化物、磺醯氯、異氰酸酯及異硫氰酸酯。此實施例之代表性延展基單元係以式Va及Vb所示，其中-R^{17}-、Ab-、-W-、-Y-、-D、w及y如上文所定義；



Va



Vb。

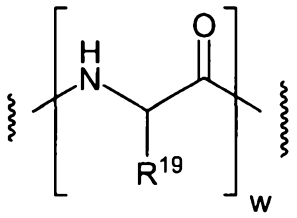
在另一實施例中，連接子可為用於經由分枝、多官能連接子部分使一個以上藥物部分共價連接於抗體之樹枝型連接子(Sun等人(2002) Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 12:2213-2215；Sun等人(2003) Bioorganic & Medicinal Chemistry 11:1761-1768；King (2002) Tetrahedron Letters 43:1987-1990)。樹枝狀連接子可增加藥物

與抗體之莫耳比率，亦即負荷，其與ADC之效能有關。因此，當半胱胺酸工程化抗體僅帶有一個反應性半胱胺酸硫醇基時，許多藥物部分可經由樹枝狀連接子連接。

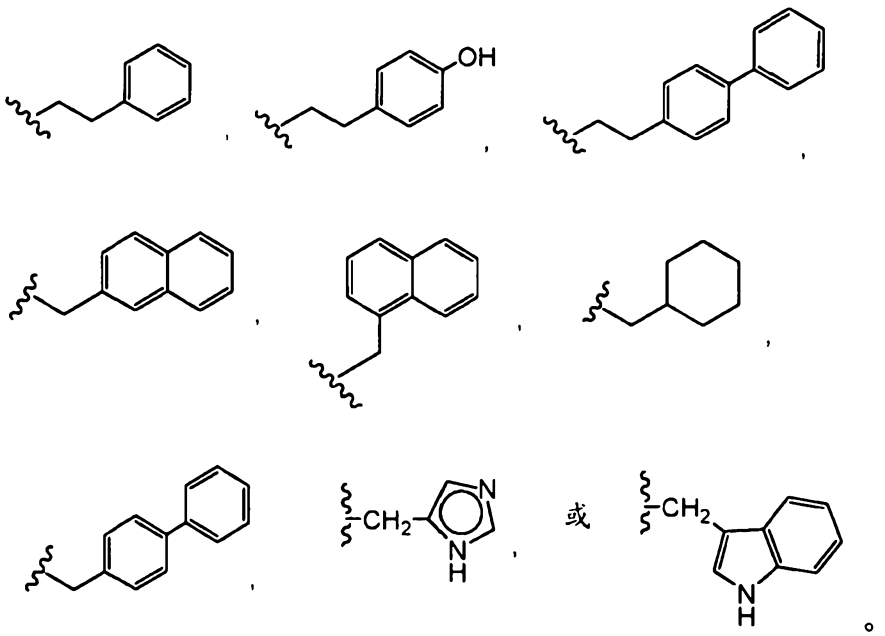
胺基酸單元

連接子可包含胺基酸殘基。胺基酸單元(-W_w-)在存在時使抗體(Ab)連接於本發明之半胱胺酸工程化抗體-藥物共軛物(ADC)之藥物部分(D)。

-W_w-為二肽、三肽、四肽、五肽、六肽、七肽、八肽、九肽、十肽、十一肽或十二肽單元。構成胺基酸單元之胺基酸殘基可包含天然存在之彼等者，以及次要胺基酸及非天然存在之胺基酸類似物，諸如瓜胺酸。-W-單元各自獨立地具有下文以方括號表示之式，且w為範圍為0至12之整數：



其中R^{19}為氫、甲基、異丙基、異丁基、第二丁基、苄基、對羥基苄基、-CH_2OH、-$CH(OH)CH_3$、-$CH_2CH_2SCH_3$、CH_2CONH_2、-CH_2COOH、-$CH_2CH_2CONH_2$、-CH_2CH_2COOH、-$(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$、-$(CH_2)_3NH_2$、-$(CH_2)_3NHCOCH_3$、-$(CH_2)_3NHCHO$、-$(CH_2)_4NHC(=NH)NH_2$、-$(CH_2)_4NH_2$、-$(CH_2)_4NHCOCH_3$、-$(CH_2)_4NHCHO$、-$(CH_2)_3NHCONH_2$、-$(CH_2)_4NHCONH_2$、-$CH_2CH_2CH(OH)CH_2NH_2$、2-吡啶基甲基-、3-吡啶基甲基-、4-吡啶基甲基-、苯基、環己基、



當R^{19}不為氫時，R^{19}所連接之碳原子為對掌性的。R^{19}所連接之各碳原子獨立地呈(S)或(R)構型，或外消旋混合物。因此，胺基酸單元可為對映異構性純的、外消旋的或非對映異構的。

例示性-W_w-胺基酸單元包括二肽、三肽、四肽或五肽。例示性二肽包括：纈胺酸-瓜胺酸(vc或val-cit)、丙胺酸-苯丙胺酸(af或ala-phe)。例示性三肽包括：甘胺酸-纈胺酸-瓜胺酸(gly-val-cit)及甘胺酸-甘胺酸-甘胺酸(gly-gly-gly)。構成胺基酸連接子組分之胺基酸殘基可包含天然存在之彼等者，以及次要胺基酸及非天然存在之胺基酸類似物，諸如瓜胺酸。

胺基酸單元可藉由一或多種酶(包括腫瘤相關蛋白酶)酶促裂解，以釋出藥物部分(-D)，在一實施例中其在釋放後經活體內質子化而提供藥物(D)。可對胺基酸連接子組分進行設計且最優化其選擇性以便由特定酶(例如腫瘤相關蛋白酶、組織蛋白酶B、C及D或纖溶酶蛋白酶)酶促裂解。

間隔基單元

當胺基酸單元存在(w=1-12)時，間隔基單元(-Y_y-)在存在(y=1或2)時使胺基酸單元(-W_w-)連接於藥物部分(D)。或者，當胺基酸單元不

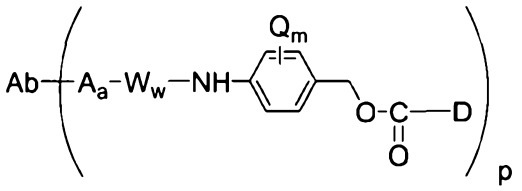
存在時，間隔基單元使延展基單元連接於藥物部分。當胺基酸單元與延展基單元皆不存在(w、y=0)時，間隔基單元亦使藥物部分連接於抗體單元。間隔基單元具有兩種一般類型：自我犧牲型及非自我犧牲型。非自我犧牲型間隔基為在自抗體-藥物共軛物或藥物部分-連接子裂解(尤其酶促裂解)胺基酸單元後間隔基單元之部分或全部保持結合於藥物部分之間隔基單元。當含有甘胺酸-甘胺酸間隔基單元或甘胺酸間隔基單元之ADC經歷經由腫瘤細胞相關蛋白酶、癌症細胞相關蛋白酶或淋巴細胞相關蛋白酶酶促裂解時，甘胺酸-甘胺酸-藥物部分或甘胺酸-藥物部分自Ab-A_a-Ww-裂解。在一實施例中，獨立水解反應在靶細胞內進行，從而使甘胺酸-藥物部分鍵裂解且釋出藥物。

在另一實施例中，-Y_y-為伸苯基部分經Q_m取代之對胺基苄基胺甲醯基(PAB)單元，其中Q為-C_1-C_8烷基、-O-(C_1-C_8烷基)、-鹵素、-硝基或-氰基；且m為範圍為0-4之整數。

非自我犧牲型間隔基單元(-Y-)之例示性實施例為：-Gly-Gly-；-Gly-；-Ala-Phe-；-Val-Cit-。

在一實施例中，提供間隔基單元不存在(y=0)之藥物部分-連接子或ADC，或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物。

或者，含有自我犧牲型間隔基單元之ADC可釋放-D。在一實施例中，-Y-為經由PAB基團之胺基氮原子連接於-W_w-且經由碳酸酯、胺基甲酸酯或醚基直接連接於-D之PAB基團，其中ADC具有例示性結構：

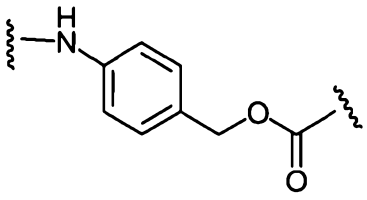


其中Q為-C_1-C_8烷基、-O-(C_1-C_8烷基)、-鹵素、-硝基或-氰基；m

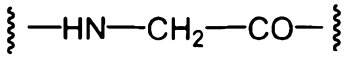
為範圍為0-4之整數；且p範圍為1至4。

自我犧牲型間隔基之其他實例包括(但不限於)在電子學上類似於PAB基團之芳族化合物，諸如2-胺基咪唑-5-甲醇衍生物(Hay等人(1999) Bioorg. Med. Chem. Lett. 9:2237)、雜環PAB類似物(US 2005/0256030)、β-葡萄糖苷酸(WO 2007/011968)及鄰胺基苄基縮醛或對胺基苄基縮醛。可使用在醯胺鍵水解後經歷環化之間隔基，諸如經取代及未經取代之4-胺基丁酸醯胺(Rodrigues等人(1995) Chemistry Biology 2:223)、適當經取代之雙環[2.2.1]及雙環[2.2.2]環系統(Storm等人(1972) J. Amer. Chem. Soc. 94:5815)及2-胺基苯基丙酸醯胺(Amsberry,等人(1990) J. Org. Chem. 55:5867)。於甘胺酸處經取代之含胺藥物的消除(Kingsbury等人(1984) J. Med. Chem. 27:1447)亦為適用於ADC之自我犧牲型間隔基之實例。

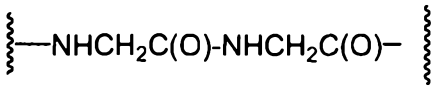
例示性間隔基單元(-Y_y-)係以式X-XII表示：



X



XI



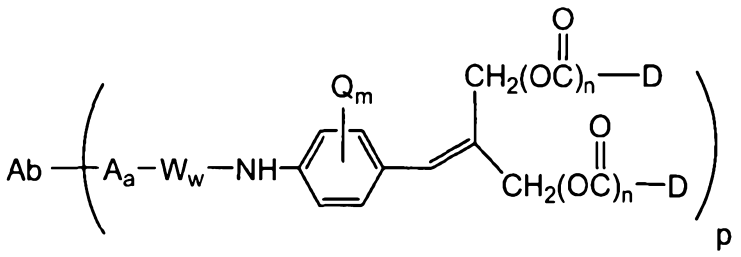
XII。

樹枝狀連接子

在另一實施例中，連接子L可為用於經由分枝、多官能連接子部分使一個以上藥物部分共價連接於抗體之樹枝型連接子(Sun等人(2002) Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 12:2213-2215；Sun等

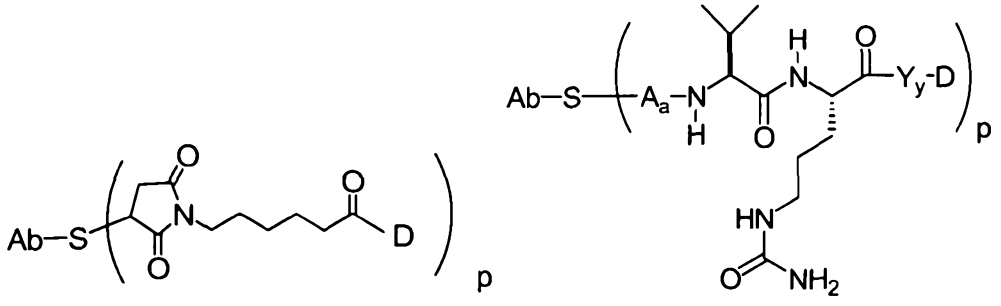
人(2003) Bioorganic & Medicinal Chemistry 11:1761-1768)。樹枝狀連接子可增加藥物與抗體之莫耳比率，亦即負荷，其與ADC之效能有關。因此，當半胱胺酸工程化抗體僅帶有一個反應性半胱胺酸硫醇基時，許多藥物部分可經由樹枝狀連接子連接。分枝、樹枝狀連接子之例示性實施例包括2,6-雙(羥甲基)-對甲酚及2,4,6-參(羥甲基)-酚樹枝狀聚合物單元(WO 2004/01993；Szalai等人(2003) J. Amer. Chem. Soc. 125:15688-15689；Shamis等人(2004) J. Amer. Chem. Soc. 126:1726-1731；Amir等人(2003) Angew. Chem. Int. Ed. 42:4494-4499)。

在一實施例中，間隔基單元為支鏈雙(羥甲基)苯乙烯(BHMS)，其可用於合併及釋放多個藥物且具有以下結構：



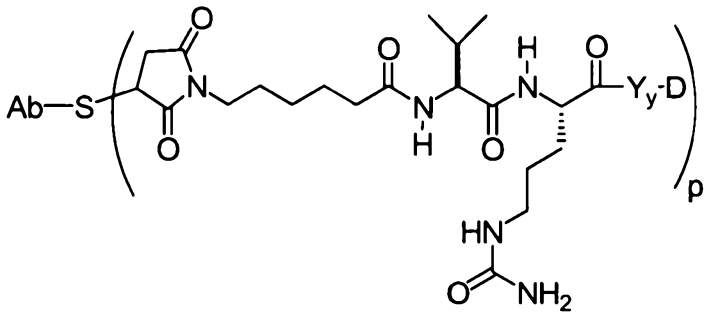
其包含2-(4-胺基亞苄基)丙-1,3-二醇樹枝狀聚合物單元(WO 2004/043493；de Groot等人(2003) Angew. Chem. Int. Ed. 42:4490-4494)，其中Q為-C_1-C_8烷基、-O-(C_1-C_8烷基)、-鹵素、-硝基或-氰基；m為範圍為0-4之整數；n為0或1；且p範圍為1至4。

式I抗體-藥物共軛物化合物之例示性實施例包括XIIIa(MC)、XIIIb(val-cit)、XIIIc(MC-val-cit)及XIIId(MC-val-cit-PAB)：

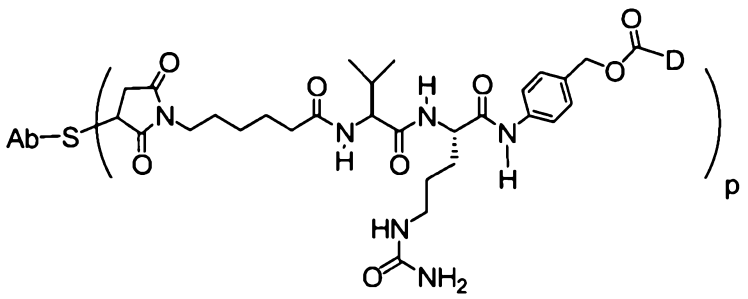


XIIIa

XIIIb

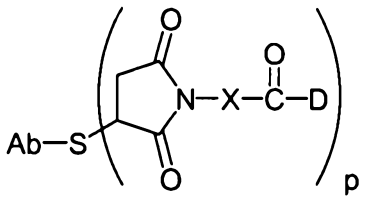


XIIIc

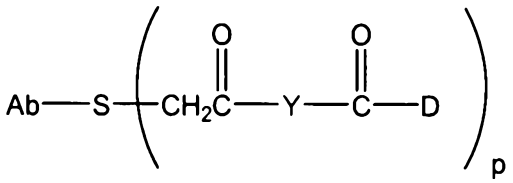


XIIId

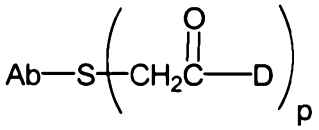
式Ia抗體-藥物共軛物化合物之其他例示性實施例包括XIVa-e：



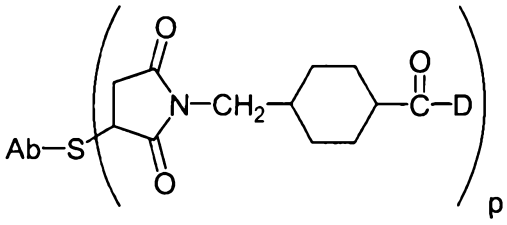
XIVa



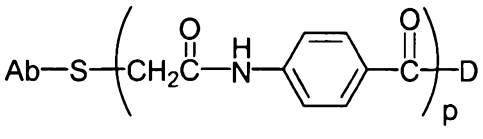
XIVb



XIVc

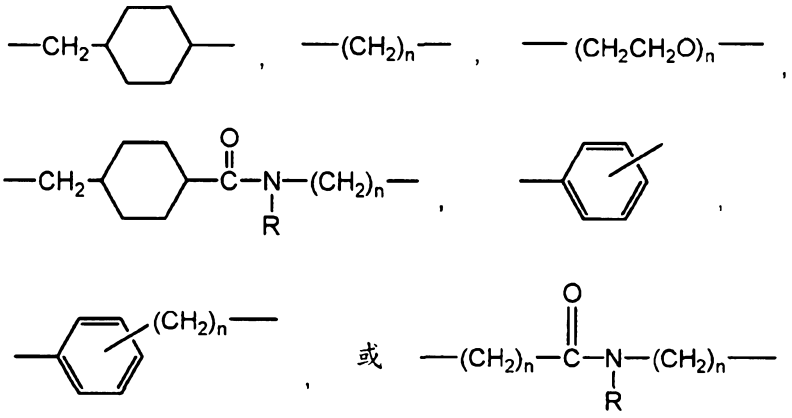


XIVd

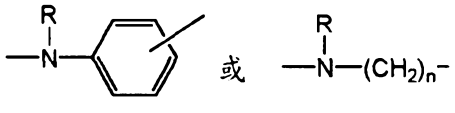


XIVe

其中X為：



Y為：



且R獨立地為H或C_1-C_6烷基；且n為1至12。

在另一個實施例中，連接子具有一個反應性官能基，該官能基具有一個親核性基團，其對存在於抗體上之親電子基團具反應性。抗體上之有用親電子基團包括(但不限於)醛及酮羰基。連接子之親核性基團之雜原子可與抗體上之親電子基團反應且形成連接至抗體單元之共價鍵。連接子上之有用親核性基團包括(但不限於)醯肼、肟、胺基、肼、硫代半卡巴腙、羧酸肼及芳基醯肼。抗體上之親電子基團提供連接於連接子之適宜位點。

通常，肽型連接子可藉由在兩個或兩個以上胺基酸及/或肽片段之間形成肽鍵來製備。該等肽鍵可例如根據肽化學領域中眾所周知之液相合成方法(E. Schröder及K. Lübke (1965) "The Peptides"，第1卷，第76-136頁，Academic Press)來製備。連接子中間物可以包括間隔、延展及胺基酸單元之任何反應組合或反應順序組裝。間隔、延展及胺基酸單元可使用性質上為親電子、親核性或自由基之反應性官能基。反應性官能基包括(但不限於)羧基、羥基、對硝基苯基碳酸酯、異硫氰酸酯及離去基，諸如O-甲磺醯基、O-甲苯磺醯基、-Cl、-Br、-I；或順丁烯二醯亞胺。

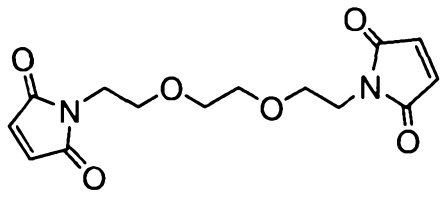
舉例而言，諸如磺酸根($-SO_3^-$)或銨之帶電取代基可增加試劑之水溶性且有助於連接子試劑與抗體或藥物部分之偶合反應，或有助於Ab-L(抗體-連接子中間物)與D或D-L(藥物-連接子中間物)與Ab之偶合反應，視製備ADC所用之合成途徑而定。

連接子試劑

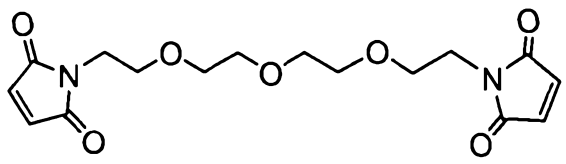
可使用各種雙官能連接子試劑來製造抗體與奧瑞他汀之共軛物，該等連接子試劑諸如N-丁二醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫基)丙酸酯(SPDP)、丁二醯亞胺基-4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1-甲酸酯(SMCC)、亞胺基硫雜環戊烷(IT)、亞胺酸酯之雙官能衍生物(諸如己二亞胺二甲酯鹽酸鹽)、活性酯(諸如辛二酸二丁二醯亞胺酯)、醛(諸如戊二醛)、雙疊氮基化合物(諸如雙(對疊氮基苄醯基)己二胺)、雙重氮衍生物(諸如雙-(對重氮苄醯基)-乙二胺)、二異氰酸酯(諸如甲苯2,6-二異氰酸酯)及雙活性氟化合物(諸如1,5-二氟-2,4-二硝基苯)。

抗體藥物共軛物亦可用下列連接子試劑製備：BMPEO、BMPS、EMCS、GMBS、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMPB、SMPH、磺酸基-EMCS、磺酸基-GMBS、磺酸基-KMUS、磺酸基-MBS、磺酸基-SIAB、磺酸基-SMCC及磺酸基-SMPB

以及SVSB(丁二醯亞胺基-(4-乙烯基碸)苯甲酸酯)，且包括雙-順丁烯二醯亞胺試劑：DTME、BMB、BMDB、BMH、BMOE、1,8-雙-順丁烯二醯亞胺基二乙二醇($BM(PEO)_2$)及1,11-雙-順丁烯二醯亞胺基三乙二醇($BM(PEO)_3$)，可購自Pierce Biotechnology, Inc., ThermoScientific, Rockford, IL，及其他試劑供應商。雙-順丁烯二醯亞胺試劑允許半胱胺酸工程化抗體之硫醇基以依序或同時方式連接於含有硫醇之藥物部分、標記或連接子中間物。除順丁烯二醯亞胺外，其他可與半胱胺酸工程化抗體、藥物部分、標記或連接子中間物之硫醇基反應的官能基包括碘乙醯胺、溴乙醯胺、乙烯基吡啶、二硫化物、吡啶基二硫化物、異氰酸酯及異硫氰酸酯。



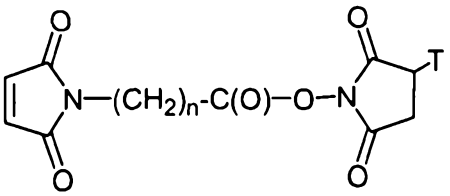
$BM(PEO)_2$



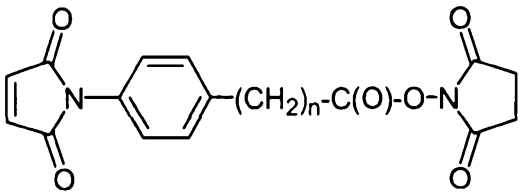
$BM(PEO)_3$

適用連接子試劑亦可經由其他商業來源獲得，諸如Molecular Biosciences Inc.(Boulder, CO)，或根據下列文獻中所述之程序來合成：Toki等人(2002) J. Org. Chem. 67:1866-1872；Walker, M.A. (1995) J. Org. Chem. 60:5352-5355；Frisch等人(1996) Bioconjugate Chem. 7:180-186；US 6214345；WO 02/088172；US 2003130189；US2003096743；WO 03/026577；WO 03/043583；及WO 04/032828。

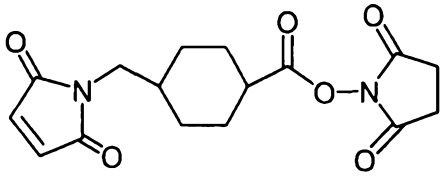
可藉由使下列連接子試劑與胺基酸單元之N末端反應來將式(IIIa)之延展基引入連接子中：



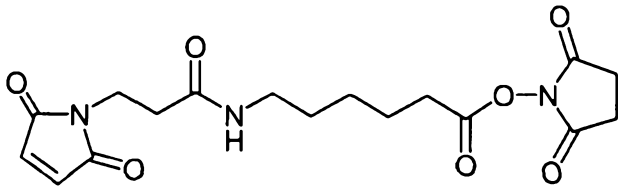
其中n為範圍為1-10之整數且T為-H或-SO_3Na；



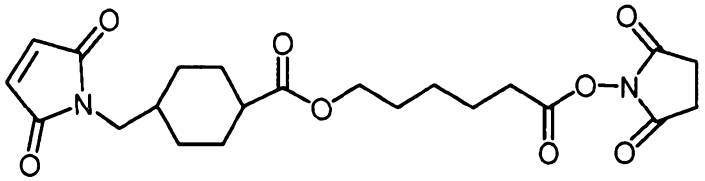
其中n為範圍為0-3之整數；

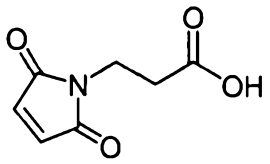

；

；

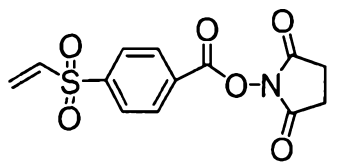
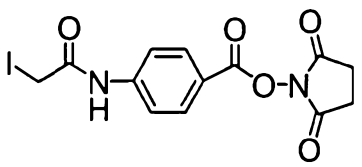
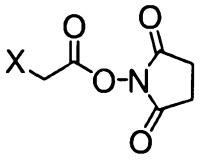
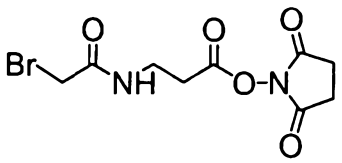
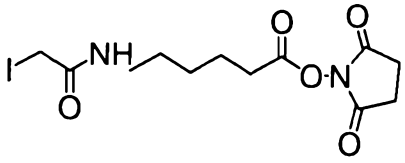

；

；


；及

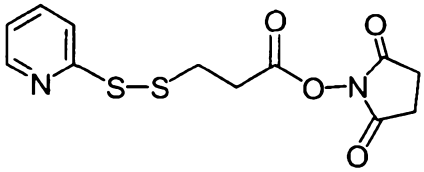
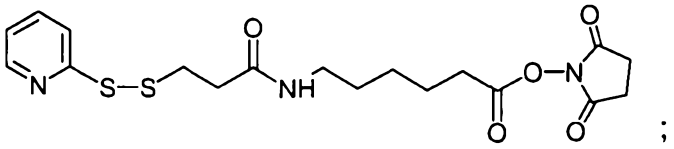

。

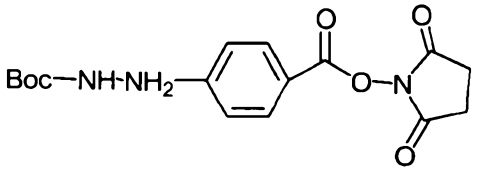
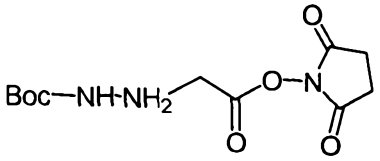
可藉由使下列雙官能試劑與胺基酸單元之N末端反應來將延展基單元引入連接子中：

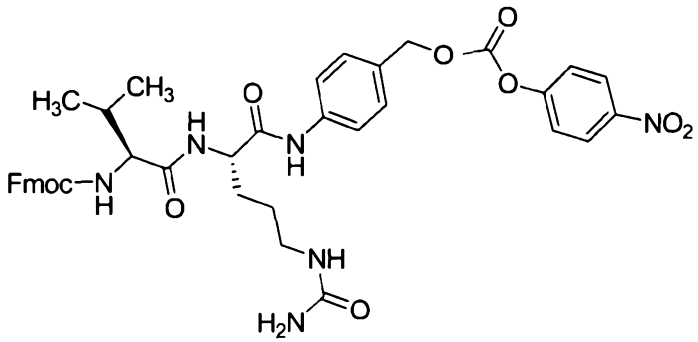
其中X為Br或I。

亦可藉由使下列雙官能試劑與胺基酸單元之N末端反應來將式之延展基單元引入連接子中：

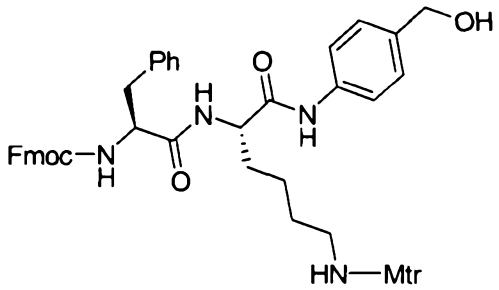


;

具有順丁烯二醯亞胺延展基及對胺基苄基胺甲醯基(PAB)自我犧牲型間隔基之例示性纈胺酸-瓜胺酸(val-cit或vc)二肽連接子試劑具有以下結構：



具有順丁烯二醯亞胺延展基單元及PAB自我犧牲型間隔基單元之例示性phe-lys(Mtr，單-4-甲氧基三苯甲基)二肽連接子試劑可根據Dubowchik等人(1997) Tetrahedron Letters, 38:5257-60來製備，且具有以下結構：



半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體-藥物共軛物之製備

式I之ADC可藉由若干途徑利用熟習此項技術者已知之有機化學反應、條件及試劑來製備，包括：(1)使半胱胺酸工程化抗體之半胱胺酸基團與連接子試劑反應，以形成經由共價鍵連接之抗體-連接子中間物Ab-L，接著與活化藥物部分D反應；及(2)使藥物部分之親核性基團與連接子試劑反應，以形成經由共價鍵連接之藥物-連接子中間物D-L，接著與半胱胺酸工程化抗體之半胱胺酸基團反應。共軛方法(1)及(2)可利用各種半胱胺酸工程化抗體、藥物部分及連接子用於製備式I之抗體-藥物共軛物。

抗體半胱胺酸硫醇基具親核性且能夠與連接子試劑及藥物-連接子中間物上之親電子基團反應形成共價鍵，該等連接子試劑及藥物-連接子中間物包括：(i)活性酯，諸如NHS酯、HOBt酯、鹵甲酸酯及醯基鹵；(ii)烷基及苄基鹵化物，諸如鹵乙醯胺；(iii)醛、酮、羧基及順丁烯二醯亞胺基團；及(iv)二硫化物，包括吡啶基二硫化物，經由硫化物交換。藥物部分上之親核性基團包括(但不限於)：胺、硫醇、羥基、醯肼、肼、肼、硫代半卡巴腙、羧酸肼及芳基醯肼基團，其能夠與連接子部分及連接子試劑上之親電子基團反應形成共價鍵。

可使半胱胺酸工程化抗體具有反應性以便藉由用諸如DTT(克萊蘭氏試劑(Cleland's reagent)，二硫蘇糖醇)或TCEP(鹽酸參(2-羧基乙基)膦；Getz等人(1999) Anal. Biochem.第273卷：73-80；Soltec Ventures, Beverly, MA)之還原劑處理，接著再氧化以重新形成鏈間及鏈內二硫鍵(實例5)而與連接子試劑共軛。舉例而言，於37℃下用約50倍莫耳過量之TCEP還原表現於CHO細胞中之全長半胱胺酸工程化單株抗體(ThioMab)歷時3小時以還原半胱胺酸加合物中之二硫鍵，其可在新引入之半胱胺酸殘基與存在於培養基中之半胱胺酸之間形成。將經還原之ThioMab稀釋且以10 mM乙酸鈉(pH 5)裝載於HiTrap S管柱上，且用含有0.3 M氯化鈉之PBS溶離。於室溫下利用稀(200 nM)硫酸銅($CuSO_4$)水溶液(隔夜)，在存在於親本Mab中之半胱胺酸殘基之間重新形成二硫鍵。或者，脫氫抗壞血酸(DHAA)為可在半胱胺酸加合物之還原裂解後有效用於重新形成半胱胺酸工程化抗體之鏈內二硫基的氧化劑。可使用此項技術中所已知之其他氧化劑及氧化條件。周圍空氣氧化亦為有效的。此溫和部分再氧化步驟以高保真度有效形成鏈內二硫鍵且保留新引入之半胱胺酸殘基之硫醇基。添加約10倍過量之藥物-連接子中間物(例如MC-vc-PAB-MMAE)，加以混合，且於室溫下靜置約1小時以實現共軛且形成抗-CD79b抗體-藥物共軛物。將共軛混合物凝膠過濾且經由HiTrap S管柱裝載並溶離以移除過量藥物-連接子中間物及其他雜質。

圖23展示製備由細胞培養物表現之半胱胺酸工程化抗體以進行共軛的通用方法。當細胞培養基含有半胱胺酸時，二硫化物加合物可在新引入之半胱胺酸胺基酸與來自培養基之半胱胺酸之間形成。必須使圖23之例示性ThioMab(左)中以圓所示的此等半胱胺酸加合物還原以產生對共軛具反應性之半胱胺酸工程化抗體。用諸如TCEP之還原劑將半胱胺酸加合物大概與各種鏈間二硫鍵一起還原性裂解以得到抗

體之還原形式。在部分氧化條件下利用硫酸銅、DHAA或暴露於周圍氧而重新形成介於配對半胱胺酸殘基之間的鏈間二硫鍵。新引入、經工程化及未配對之半胱胺酸殘基仍可用於與連接子試劑或藥物-連接子中間物反應以形成本發明之抗體共軛物。表現於哺乳動物細胞株中之ThioMab產生經由-S-S-鍵形成與工程化Cys外部共軛之Cys加合物。因此，用如實例5中所述之還原及再氧化程序處理經純化之ThioMab以產生反應性ThioMab。此等ThioMab用於與含有順丁烯二醯亞胺之細胞毒性藥物、螢光團及其他標記共軛。

10.**免疫脂質體**

本文所揭示之抗-CD79b抗體亦可被調配為免疫脂質體。"脂質體"為由適用於將藥物傳遞至哺乳動物之各種類型之脂質、磷脂及/或界面活性劑構成的小泡。脂質體之組分通常排列成雙層構造，類似於生物膜之脂質排列。含有抗體之脂質體係藉由此項技術中已知之方法來製備，諸如Epstein等人，**Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 82:3688 (1985)；Hwang等人，**Proc. Natl Acad. Sci. USA** 77:4030 (1980)；美國專利第4,485,045號及第4,544,545號；及1997年10月23日公開之WO97/38731中所述之方法。循環時間提高之脂質體係揭示於美國專利第5,013,556號中。

尤其適用之脂質體可藉由用包含磷脂醯膽鹼、膽固醇及PEG衍生之磷脂醯乙醇胺(PEG-PE)之脂質組合物的逆相蒸發法來產生。經由限定孔徑之過濾器擠出脂質體以得到具有所需直徑之脂質體。本發明之抗體之Fab'片段可經由二硫鍵互換反應而與脂質體共軛(如Martin等人，**J. Biol. Chem.** 257:286-288 (1982)中所述)。化學治療劑視情況包含於脂質體內。參見Gabizon等人，**J. National Cancer Inst.** 81(19):1484 (1989)。

B.**某些製造抗體之方法**

1.**篩選具有所需特性之抗-CD79b抗體**

用於產生結合於CD79b多肽之抗體之技術已在上文描述。吾人可進一步按需要選擇具有某些生物學特性之抗體。

本發明之抗-CD79b抗體之生長抑制效應可藉由此項技術中已知之方法來評估，例如使用內源性表現或在用CD79b基因轉染後表現CD79b多肽之細胞。舉例而言，可用各種濃度之本發明之抗-CD79b單株抗體將適當腫瘤細胞株及CD79b轉染之細胞處理幾天(例如2-7天)且用結晶紫或MTT染色或藉由一些其他比色檢定分析。另一量測增生之方法將藉由比較在本發明之抗-CD79b抗體存在或不存在的情況下處理之細胞的^{3}H-胸苷吸收來進行。在處理後，採集細胞且以閃爍計數器量化併入DNA中之放射性量。適當陽性對照包括用已知抑制所選細胞株生長之生長抑制性抗體處理彼細胞株。腫瘤細胞之活體內生長抑制可以此項技術中已知之各種方式來測定。腫瘤細胞可為過表現CD79b多肽之細胞。與未經處理之腫瘤細胞相比，抗-CD79b抗體可將表現CD79b之腫瘤細胞活體外或活體內之細胞增生抑制約25-100%，更佳抑制約30-100%，且在一實施例中，在約0.5 μg/ml至30 μg/ml之抗體濃度下甚至更佳抑制約50-100%或70-100%。生長抑制可於在細胞培養物中約0.5 μg/ml至30 μg/ml或約0.5 nM至200 nM之抗體濃度下量測，其中在使腫瘤細胞暴露於抗體後1-10天測定生長抑制。若投與約1微克/公斤體重至約100毫克/公斤體重之抗-CD79b抗體導致在距離第一次投與抗體約5天至3個月內(較佳約5天至30天內)腫瘤尺寸減小或腫瘤細胞增生減少，則抗體具活體內生長抑制性。

為選擇誘發細胞死亡之抗-CD79b抗體，可相對於對照組評估如由例如碘化丙啶(PI)、錐蟲藍或7AAD攝取所指示的膜完整性之損失。PI攝取檢定可在補體及免疫效應細胞不存在之情況下執行。將表現CD79b多肽之腫瘤細胞與單獨培養基或含有適當抗-CD79b抗體(例

如約10 μg/ml)之培養基一起培養。將細胞培養3天之時段。繼各處理後，將細胞洗滌且等分至蓋有35 mm過濾器之12×75管中(每管1 ml，每治療組3管)以移除細胞凝塊。接著管接受PI(10 μg/ml)。可使用FACSCAN®流式細胞儀及FACSCONVERT® CellQuest軟體(Becton Dickinson)分析樣品。可選擇如藉由PI攝取所測定之彼等誘導統計學上顯著的細胞死亡量之抗-CD79b抗體作為誘發細胞死亡之抗-CD79b抗體。

為篩選結合於由所關注之抗體結合之CD79b多肽上的抗原決定基之抗體，可執行常規交叉阻斷檢定，諸如**Antibodies, A Laboratory Manual**, Cold Spring Harbor Laboratory, Harlow及David Lane編輯，(1988)中所述之彼檢定。此檢定可用於測定是否測試抗體結合與已知抗-CD79b抗體相同之位點或抗原決定基。或者或另外，可藉由此項技術中已知之方法執行抗原決定基定位。舉例而言，可諸如藉由丙胺酸掃描誘發抗體序列突變以鑑別接觸殘基。最初測試突變抗體與多株抗體之結合以確保正確摺疊。在不同方法中，對應於CD79b多肽之不同區域之肽可與測試抗體或與測試抗體及具有經表徵或已知抗原決定基之抗體一起用於競爭檢定中。

2.某些庫篩選方法

本發明之抗-CD79b抗體可藉由使用組合庫篩選具有所需活性之抗體來製備。舉例而言，此項技術中已知各種用於產生噬菌體呈現庫及針對具有所需結合特徵之抗體篩選該等庫的方法。該等方法一般描述於Hoogenboom等人(2001) in Methods in Molecular Biology 178:1-37(O'Brien等人編，Human Press, Totowa, NJ)中，且在某些實施例中描述於Lee等人(2004) J. Mol. Biol. 340:1073-1093中。

原則上，藉由篩選含有呈現與噬菌體外殼蛋白融合之抗體可變區(Fv)之各種片段的噬菌體之噬菌體庫來選擇合成抗體純系。藉由針

對所需抗原之親和層析淘選該等噬菌體庫。使表現能夠結合於所需抗原之Fv片段之純系吸附於抗原上且因此與庫中之非結合純系分離。接著將結合純系自抗原溶離出來，且可進一步藉由抗原吸附/溶離之額外循環而富集。本發明之抗-CD79b抗體中之任一者可藉由設計合適之抗原篩選程序以選擇所關注之噬菌體純系，接著使用來自所關注之噬菌體純系之Fv序列及合適恆定區(Fc)序列來建構全長抗-CD79b抗體純系(Kabat等人，Sequences of Proteins of Immunological Interest，第5版，NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991)，第1-3卷中所述)而獲得。

在某些實施例中，抗體之抗原結合域係由兩個約110個胺基酸之可變(V)區形成，各來自輕鏈(VL)及重鏈(VH)，兩者皆存在有三個高變環(HVR)或互補判定區(CDR)。如Winter等人，Ann. Rev. Immunol., 12: 433-455 (1994)中所述，可變域可就功能而言以下列形式呈現於噬菌體上：單鏈Fv(scFv)片段，其中VH及VL經由短撓性肽共價連接；Fab片段，其中其各自與恆定域融合且非共價地相互作用。如本文所使用，編碼scFv之噬菌體純系及編碼Fab之噬菌體純系被統稱為"Fv噬菌體純系"或"Fv純系"。

VH及VL基因之譜系可獨立地藉由聚合酶鏈反應(PCR)選殖且隨機再組合於噬菌體庫中，接著可查找抗原結合純系，此如Winter等人，Ann. Rev. Immunol., 12: 433-455 (1994)中所述。來自經免疫來源之庫向免疫原提供高親和力抗體而無需建構融合瘤。或者，可選殖初始譜系以向各種非自體抗原以及自體抗原提供人類抗體之單一來源而無需任何免疫處理(如Griffiths等人，EMBO J, 12: 725-734 (1993)所述)。最後，亦可藉由選殖來自幹細胞之未重排之V基因區段，且使用含有隨機序列之PCR引子來編碼高可變CDR3區及實現活體外重排(如Hoogenboom及Winter, J. Mol. Biol., 227: 381-388 (1992)所述)，從而

以合成方式製備初始庫。

在某些實施例中，使用絲狀噬菌體來藉由與次要外殼蛋白pIII融合而呈現抗體片段。抗體片段可以下列形式呈現：單鏈Fv片段，其中VH及VL域藉由撓性多肽間隔基連接於同一多肽鏈上，例如Marks等人，J. Mol. Biol., 222: 581-597 (1991)所述；或Fab片段，其中一條鏈與pIII融合且另一條分泌至細菌宿主細胞周質中，在該周質中藉由置換一些野生型外殼蛋白來組裝呈現於噬菌體表面上之Fab-外殼蛋白結構，例如Hoogenboom等人，Nucl. Acids Res., 19: 4133-4137 (1991)中所述。

一般而言，編碼抗體基因片段之核酸係自採集自人類或動物之免疫細胞獲得。若需要偏向有利於抗-CD79b純系之庫，則用CD79b使個體免疫以產生抗體反應，且回收脾細胞及/或循環B細胞或其他周邊血淋巴細胞(PBL)以用於建構庫。在一較佳實施例中，偏向有利於抗-CD79b純系之人類抗體基因片段庫係藉由在帶有功能性人類免疫球蛋白基因陣列(且缺乏功能性內源性抗體產生系統)之轉殖基因小鼠體內產生抗-CD79b抗體反應以至於CD79b免疫導致形成產生針對CD79b之人類抗體之B細胞而獲得。產生人類抗體之轉殖基因小鼠之產生描述如下。

抗-CD79b反應性細胞群體之另外富集可藉由使用合適之篩選程序來分離表現CD79b特異性膜結合抗體之B細胞(例如藉由使用CD79b親和層析分離細胞或使細胞吸附於螢光染料標記之CD79b接著進行流式活化細胞分選(FACS)來達成)而獲得。

或者，使用來自未經免疫之供體之脾細胞及/或B細胞或其他PBL提供可能抗體譜系之較好圖示，且亦允許使用CD79b不具抗原性之任何動物(人類或非人類)物種建構抗體庫。對於合併活體外抗體基因構建之庫而言，自個體採集幹細胞以提供編碼未重排之抗體基因區段之

核酸。所關注之免疫細胞可自各種動物物種獲得，諸如人類、小鼠、大鼠、兔類、狼類、犬類、貓類、豬類、牛類、馬類及鳥類物種等。

自所關注之細胞回收編碼抗體可變基因區段(包括VH及VL區段)之核酸且進行擴增。在重排VH及VL基因庫之情況下，所需DNA可藉由自淋巴細胞分離染色體組DNA或mRNA，接著用匹配重排VH及VL基因之5'及3'末端的引子進行聚合酶鏈反應(PCR)(如Orlandi等人，Proc. Natl. Acad. Sci. (USA), 86: 3833-3837 (1989)中所述)，藉此為表現製得不同V基因譜系而獲得。V基因可用編碼成熟V域之外顯子之5'末端處的反向引子及立基於J區段內之前向引子(如Orlandi等人(1989)及Ward等人，Nature, 341: 544-546 (1989)中所述)自cDNA及染色體組DNA擴增。然而，對於自cDNA擴增而言，反向引子亦可立基於前導外顯子中(如Jones等人，Biotechnol., 9: 88-89 (1991)中所述)，且前向引子立基於恆定區內(如Sastry等人，Proc. Natl. Acad. Sci. (USA), 86: 5728-5732 (1989)中所述)。為使互補性達到最大，可如Orlandi等人(1989)或Sastry等人(1989)中所述將簡併併入引子中。在某些實施例中，為了擴增存在於免疫細胞核酸樣品中之所有可用VH及VL排列，藉由使用靶向各V基因家族之PCR引子使庫多樣性最大化，例如Marks等人，J. Mol. Biol., 222: 581-597 (1991)之方法中所述或Orum等人，Nucleic Acids Res., 21: 4491-4498 (1993)之方法中所述。為了將擴增之DNA選殖至表現載體中，可如Orlandi等人(1989)中所述將稀有限制性位點作為一端處之標籤引入PCR引子內，或如Clackson等人，Nature, 352: 624-628 (1991)中所述進一步用標籤引子進行PCR擴增。

合成重排V基因之譜系可自V基因區段活體外產生。已對大多數人類VH基因區段進行選殖及定序(Tomlinson等人，J. Mol. Biol., 227: 776-798 (1992)中所報導)，並加以定位(Matsuda等人，Nature Genet., 3: 88-94 (1993)中所報導)；此等經選殖之區段(包括H1及H2環之所有

主要構形)可用於以編碼不同序列及長度之H3環之PCR引子產生不同VH基因譜系(如Hoogenboom及Winter, J. Mol. Biol., 227: 381-388 (1992)中所述)。亦可如Barbas等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89: 4457-4461 (1992)中所述製備所有序列多樣性集中於單一長度之長H3環中之VH譜系。已對人類Vκ及Vλ區段進行選殖及定序(Williams及Winter, Eur. J. Immunol., 23: 1456-1461 (1993)中所報導)且可用於製備合成輕鏈譜系。基於一系列VH與VL摺疊及L3與H3長度之合成V基因譜系將編碼具有可觀結構多樣性之抗體。繼編碼V基因之DNA的擴增後，可根據Hoogenboom及Winter, J. Mol. Biol., 227: 381-388 (1992)之方法使生殖系V基因區段於活體外重排。

抗體片段之譜系可藉由以若干方式將VH及VL基因譜系組合在一起而建構。各譜系可在不同載體中形成，且將該等載體在活體外再組合，例如Hogrefe等人，Gene, 128: 119-126 (1993)中所述，或藉由組合感染在活體內再組合，例如Waterhouse等人，Nucl. Acids Res., 21: 2265-2266 (1993)中所述之loxP系統。活體內再組合方法利用Fab片段之兩鏈性質來克服由大腸桿菌轉型效率對庫尺寸所施加之限制。分別對初始VH及VL譜系進行選殖，一個選殖至噬粒中且另一個選殖至噬菌體載體中。接著藉由含有噬粒之細菌之噬菌體感染將兩個庫組合以至於各細胞含有不同組合且庫尺寸僅受限於所存在之細胞之數目(約10^{12}個純系)。兩載體含有活體內再組合信號以至於將VH及VL基因再組合於單一複製子上且共包裝於噬菌體病毒粒子中。此等巨大庫提供大量具有良好親和力之不同抗體(K_d^{-1}為約10^{-8} M)。

或者，可將該等譜系依序選殖至同一載體中，例如Barbas等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88: 7978-7982 (1991)中所述，或藉由PCR組裝在一起且接著選殖，例如Clackson等人，Nature, 352: 624-628 (1991)中所述。PCR組裝亦可用於連接VH及VL DNA與編碼撓性肽間

隔基之DNA以形成單鏈Fv(scFv)譜系。在另一技術中，使用"細胞內PCR組裝"藉由PCR將VH及VL基因組合於淋巴細胞內且接著選殖連鎖基因之譜系(如Embleton等人，Nucl. Acids Res., 20: 3831-3837 (1992)中所述)。

由初始庫(天然或合成)所產生之抗體可具有中等親和力(K_d^{-1}為約10^6至10^7 M^{-1})，但亦可藉由自次級庫建構及再選擇來活體外模擬親和力成熟(如Winter等人(1994)(見上)中所述)。舉例而言，可藉由在Hawkins等人，J. Mol. Biol., 226: 889-896 (1992)之方法或Gram等人，Proc. Natl. Acad. Sci USA, 89: 3576-3580 (1992)之方法中使用易錯聚合酶(Leung等人，Technique, 1: 11-15 (1989)中所報導)而於活體外隨機地引入突變。另外，可藉由隨機地使所選個別Fv純系中之一或多個CDR突變(例如使用PCR，用帶有跨越所關注之CDR之隨機序列的引子)，且篩選較高親和力純系來執行親和力成熟。WO 9607754(1996年3月14日公開)描述一種誘發免疫球蛋白輕鏈之互補判定區突變以形成輕鏈基因庫之方法。另一有效方法係如Marks等人，Biotechnol., 10: 779-783 (1992)中所述將藉由噬菌體呈現所選之VH或VL域與自未經免疫供體獲得的天然存在之V域變異體之譜系再組合且以若干輪鏈改組篩選較高親和力。此技術允許產生具有約10^{-9} M或更小之親和力之抗體及抗體片段。

庫之篩選可藉由此項技術中已知之各種技術來完成。舉例而言，CD79b可被用於塗覆吸附板之孔，被表現在附著於吸附板之宿主細胞上或被用於細胞分選，或與生物素共軛以用塗有抗生蛋白鏈菌素之珠粒進行捕捉，或被用於任何其他用於淘選噬菌體呈現庫之方法中。

使噬菌體庫樣品與固定CD79b在適合於使噬菌體顆粒之至少一部分與吸附劑結合的條件下接觸。通常，選擇包括pH值、離子強度、

溫度及其類似條件之條件來模擬生理條件。將結合於固相之噬菌體洗滌且接著以酸溶離，例如Barbas等人，Proc. Natl. Acad. Sci USA, 88: 7978-7982 (1991)中所述，或以鹼溶離，例如Marks等人，J. Mol. Biol., 222: 581-597 (1991)中所述，或藉由CD79b抗原競爭溶離，例如類似於Clackson等人，Nature, 352: 624-628 (1991)之抗原競爭方法之程序。在單輪選擇中可使噬菌體富集20-1,000倍。此外，可使富集之噬菌體生長於細菌培養物中且經受其他輪之選擇。

選擇效率視許多因素而定，包括洗滌期間之解離動力學性質，及是否單一噬菌體上之多個抗體片段可同時與抗原嚙合。具有快速解離動力學性質(及弱結合親和力)之抗體可通過利用短時間洗滌、多價噬菌體呈現及於固相中之高抗原塗覆密度來保留。高密度不僅經由多價相互作用使噬菌體穩定，且亦有利於已解離之噬菌體重新結合。具有緩慢解離動力學性質(及良好結合親和力)之抗體的選擇可通過利用長時間洗滌及單價噬菌體呈現(如Bass等人，Proteins, 8: 309-314 (1990)及WO 92/09690中所述)及低抗原塗覆密度(如Marks等人，Biotechnol., 10: 779-783 (1992)中所述)來促進。

有可能在不同親和力之噬菌體抗體之間選擇，即使對於CD79b之親和力略微不同亦然。然而，所選抗體之隨機突變(例如在一些親和力成熟技術中所執行)很可能導致許多突變、大多數與抗原結合且少許具有較高親和力。在限制CD79b之情況下，稀有高親和力噬菌體可被競爭出局。為保留所有較高親和力突變體，可將噬菌體與過量生物素標記之CD79b一起培養，但生物素標記之CD79b的莫耳濃度比對於CD79b之靶莫耳親和力常數低。接著可藉由塗有抗生蛋白鏈菌素之順磁性珠粒捕捉高親和力結合噬菌體。該"平衡捕捉"允許根據結合親和力選擇抗體，其靈敏度允許具有僅僅高兩倍之親和力之突變純系與大大過量之具有較低親和力之噬菌體分離。亦可控制用於洗滌結合於固

相之噬菌體之條件以基於解離動力學進行區分。

可基於活性選擇抗-CD79b純系。在某些實施例中，本發明提供結合於天然表現CD79b之活細胞之抗-CD79b抗體。在一實施例中，本發明提供阻斷CD79b配位體與CD79b之間的結合、但不阻斷CD79b配位體與第二蛋白質之間的結合之抗-CD79b抗體。對應於該等抗-CD79b抗體之Fv純系可藉由下列步驟進行選擇：(1)自如上文所述之噬菌體庫分離抗-CD79b純系，且視情況藉由使所分離之噬菌體純系群體在合適之細菌宿主中成長來擴增該群體；(2)選擇分別需要阻斷及非阻斷活性所針對之CD79b及第二蛋白質；(3)使抗-CD79b噬菌體純系吸附於固定CD79b；(4)使用過量第二蛋白質來溶離識別與第二蛋白質之結合決定子重疊或與前述者共有之CD79b結合決定子的任何不希望有之純系；及(5)溶離在步驟(4)之後仍吸附之純系。視情況，可進一步藉由將本文所述之選擇程序重複一或多次來富集具有所需阻斷/非阻斷特性之純系。

容易使用習知程序(例如藉由使用經設計用以自融合瘤或噬菌體DNA模板特異性擴增所關注之重鏈及輕鏈編碼區域之寡核苷酸引子)將編碼本發明之融合瘤源性單株抗體或噬菌體呈現Fv純系之DNA分離及定序。分離後，可將DNA置於表現載體中，接著將其轉染至諸如大腸桿菌細胞、猿COS細胞、中國倉鼠卵巢(CHO)細胞或骨髓瘤細胞之不以其他方式產生免疫球蛋白蛋白質之宿主細胞中，以獲得所需單株抗體在重組宿主細胞中之合成。關於編碼抗體之DNA在細菌中之重組表現的評述文章包括Skerra等人，Curr. Opinion in Immunol., 5: 256 (1993)及Pluckthun, Immunol. Revs, 130: 151 (1992)。

可將編碼本發明之Fv純系之DNA與編碼重鏈及/或輕鏈恆定區之已知DNA序列組合(例如可自Kabat等人(見上)獲得適當DNA序列)以形成編碼全長或部分長度之重鏈及/或輕鏈之純系。應瞭解任何同型之

恆定區可用於此目的，包括IgG、IgM、IgA、IgD及IgE恆定區，且該等恆定區可自任何人類或動物物種獲得。源自一種動物(諸如人類)物種之可變域DNA且接著與另一動物物種之恆定區DNA融合以形成"雜合"全長重鏈及/或輕鏈之編碼序列的Fv純系係包括在如本文所使用之"嵌合"及"雜合"抗體之定義中。在某些實施例中，將源自人類可變DNA之Fv純系與人類恆定區DNA融合以形成全長或部分長度之人類重鏈及/或輕鏈之編碼序列。

編碼源自融合瘤之抗-CD79b抗體之DNA亦可例如藉由用人類重鏈及輕鏈恆定域之編碼序列取代以替代源自融合瘤純系之同源鼠類序列來進行修飾(例如Morrison等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81: 6851-6855 (1984)之方法)。編碼融合瘤或Fv純系源性抗體或片段之DNA可進一步藉由使非免疫球蛋白多肽之編碼序列之全部或部分共價連接於免疫球蛋白編碼序列來進行修飾。以此方式，製備具有本發明之Fv純系或融合瘤純系源性抗體之結合特異性的"嵌合"或"雜合"抗體。

C.抗體依賴性酶介導前藥療法(ADEPT)

本發明之抗體亦可藉由使抗體與能使前藥(例如肽基化學治療劑，參見WO81/01145)轉化為活性抗癌藥物之前藥活化酶共軛而用於ADEPT中。參見例如WO 88/07378及美國專利第4,975,278號。

適用於ADEPT之免疫共軛物之酶組分包括能夠以一定方式作用於前藥以便使前藥轉化為其更具活性之細胞毒性形式的任何酶。

適用於本發明之方法之酶包括(但不限於)鹼性磷酸酶，其適用於使含有磷酸酯之前藥轉化為游離藥物；芳基硫酸酯酶，其適用於使含有硫酸酯之前藥轉化為游離藥物；胞嘧啶脫胺酶，其適用於使無毒5-氟胞嘧啶轉化為抗癌藥物5-氟尿嘧啶；蛋白酶，諸如沙雷氏菌蛋白酶、嗜熱菌蛋白酶、枯草桿菌蛋白酶、羧基肽酶及組織蛋白酶(諸如

組織蛋白酶B及L)，其適用於使含有肽之前藥轉化為游離藥物；D-丙胺醯基羧基肽酶，其適用於轉化含有D-胺基酸取代基之前藥；碳水化合物裂解酶，諸如β-半乳糖苷酶及神經胺酸酶，其適用於使糖基化前藥轉化為游離藥物；β-內醯胺酶，其適用於使以β-內醯胺衍生化之藥物轉化為游離藥物；及青黴素醯胺酶，諸如青黴素V醯胺酶及青黴素G醯胺酶，其分別適用於使於胺氮處以苯氧基乙醯基或苯乙醯基衍生化之藥物轉化為游離藥物。或者，具有酶促活性之抗體(此項技術中亦稱為"抗體酶")可用於使本發明之前藥轉化為游離活性藥物(參見例如Massey, **Nature** 328:457-458 (1987))。為將抗體酶傳遞至腫瘤細胞群體可如本文所述製備抗體-抗體酶共軛物。

本發明之酶可藉由此項技術中熟知之技術(諸如使用上述所論述之異型雙官能交聯劑)來共價結合於抗-CD79b抗體。或者，至少包含至少連接於本發明之酶之功能活性部分的本發明之抗體之抗原結合區的融合蛋白可使用此項技術中熟知之重組DNA技術來建構(參見例如Neuberger等人，**Nature** 312:604-608 (1984))。

D.抗-CD79b抗體

除了本文所述之抗-CD79b抗體，預期可製備抗-CD79b抗體變異體。抗-CD79b抗體變異體可藉由將適當核苷酸變化引入編碼DNA中，及/或藉由合成所需抗體或多肽來製備。熟習此項技術者應瞭解，胺基酸變化可能改變抗-CD79b抗體之轉譯後過程，諸如改變糖基化位點之數目或位置或改變膜錨定特徵。

本文所述之抗-CD79b抗體之變化可例如使用(例如)美國專利第5,364,934號中所述用於保守性及非保守性突變之技術及準則中的任一者來產生。變化可為一或多個編碼抗體或多肽之密碼子之取代、缺失或插入，此導致胺基酸序列與天然序列抗體或多肽相比有變化。視情況，該變化為用抗-CD79b抗體之一或多個域中之任何其他胺基酸取

代至少一個胺基酸。對於確定可插入、取代或缺失哪個胺基酸殘基而不會不利地影響所需活性之指導可藉由比較抗-CD79b抗體之序列與同源已知蛋白質分子之序列且將高同源性區域中所產生之胺基酸序列變化之數目減至最少而得到。胺基酸取代可為用另一個具有類似結構及/或化學特性之胺基酸置換一個胺基酸之結果，諸如用絲胺酸置換白胺酸，亦即保守性胺基酸置換。插入或缺失可視情況在約1個至5個胺基酸之範圍內。所允許之變化可藉由系統地在序列中進行胺基酸之插入、缺失或取代且針對由全長或成熟天然序列所展現之活性測試所得變異體而判定。

本文提供抗-CD79b抗體片段。該等片段可於N末端或C末端處截短，或可缺乏內部殘基，例如當與全長天然抗體或蛋白質相比時。某些片段缺乏對於抗-CD79b抗體之所需生物活性並非必需之胺基酸殘基。

抗-CD79b抗體片段可藉由許多習知技術中之任一者來製備。所需肽片段可以化學方法合成。一種替代性方法包含藉由酶促消化產生抗體或多肽片段，例如藉由用已知於由特定胺基酸殘基界定之位點處使蛋白質裂解之酶處理蛋白質，或藉由用合適之限制酶消化DNA且分離所需片段。另一合適之技術包含分離編碼所需抗體或多肽片段之DNA片段及藉由聚合酶鏈反應(PCR)擴增。在PCR中於5'及3'引子處利用界定DNA片段之所需末端之寡核苷酸。較佳地，抗-CD79b抗體片段與本文所揭示之天然抗-CD79b抗體共有至少一種生物及/或免疫活性。

在特定實施例中，所關注之保守性取代係如表8中較佳取代之標題下所示。若該等取代導致生物活性變化，則引入表8中稱為例示性取代或如下文進一步關於胺基酸種類所述之更多實質變化且篩選產物。

表8

原始殘基	例示性取代	較佳取代
Ala(A)	val；leu；ile	val
Arg(R)	lys；gln；asn	lys
Asn(N)	gln；his；lys；arg	gln
Asp(D)	glu	glu
Cys(C)	ser	ser
Gln(Q)	asn	asn
Glu(E)	asp	asp
Gly(G)	pro；ala	ala
His(H)	asn；gln；lys；arg	arg
Ile(I)	leu；val；met；ala；phe；	
	正白胺酸	leu
Leu(L)	正白胺酸；ile；val；	
	met；ala；phe	ile
Lys(K)	arg；gln；asn	arg
Met(M)	leu；phe；ile	leu
Phe(F)	leu；val；ile；ala；tyr	leu
Pro(P)	ala	ala
Ser(S)	thr	thr
Thr(T)	ser	ser
Trp(W)	tyr；phe	tyr
Tyr(Y)	trp；phe；thr；ser	phe
Val(V)	ile；leu；met；phe；	
	ala；正白胺酸	leu

抗-CD79b抗體之功能或免疫學一致性之實質修飾係藉由選擇取代來達成，該等取代在其對保持以下特徵之效應方面顯著不同：(a)在取代區域中之多肽主鏈之結構，例如呈摺疊或螺旋構形；(b)靶位

點處之分子之電荷或疏水性；或(c)側鏈之堆積密度。天然存在之殘基基於常見側鏈特性被分為下列各組：

(1)疏水性：正白胺酸、met、ala、val、leu、ile；

(2)中性親水性：cys、ser、thr；

(3)酸性：asp、glu；

(4)鹼性：asn、gln、his、lys、arg；

(5)影響鏈取向之殘基：gly、pro；及

(6)芳族：trp、tyr、phe。

非保守性取代將需要將此等種類中之一者的成員交換為另一種類。該等經取代之殘基亦可引入保守性取代位點或更佳地引入剩餘(非保守性)位點。

可使用此項技術中已知之方法來作出變化，諸如寡核苷酸介導(定點)突變誘發、丙胺酸掃描及PCR突變誘發。可對所選殖之DNA執行定點突變誘發[Carter等人，**Nucl. Acids Res.**, **13**:4331 (1986)；Zoller等人，**Nucl. Acids Res.**, **10**:6487 (1987)]、盒突變誘發[Wells等人，**Gene, 34**:315 (1985)]、限制選擇突變誘發[Wells等人，**Philos. Trans. R. Soc. London SerA, 317**:415 (1986)]或其他已知技術以產生抗-CD79b抗體變異體DNA。

掃描胺基酸分析亦可用於沿連續序列鑑別一或多個胺基酸。在較佳掃描胺基酸中有相對小的中性胺基酸。該等胺基酸包括丙胺酸、甘胺酸、絲胺酸及半胱胺酸。丙胺酸通常為此組中之較佳掃描胺基酸，此係因為其消除了β碳之上的側鏈且不大可能改變變異體之主鏈構形[Cunningham及Wells, **Science**, 244:1081-1085 (1989)]。丙胺酸亦通常為較佳的，此係因為其為最常見之胺基酸。此外，其常常見於內埋與暴露位置處[Creighton, The Proteins, (W.H. Freeman & Co., N.Y.)；Chothia, **J. Mol. Biol.**, **150**:1 (1976)]。若丙胺酸取代不產生足

夠量之變異體，則可使用電子等排胺基酸。

不涉及維持抗-CD79b抗體之恰當構形之任何半胱胺酸殘基亦可一般經絲胺酸取代，以改善分子之氧化穩定性且防止異常交聯。相反，可將半胱胺酸鍵添加至抗-CD79b抗體中以改善其穩定性(尤其當抗體為抗體片段時，諸如Fv片段)。

尤其較佳之取代性變異體類型包含取代親本抗體(例如人類化或人類抗體)之一或多個高變區殘基。一般，為進一步發展而選擇之所得變異體將具有相對於產生其之親本抗體改善之生物學特性。用於產生該等取代性變異體之習知方式包含使用噬菌體呈現進行之親和力成熟。簡言之，使若干高變區位點(例如，6-7個位點)突變以於各位點處產生所有可能的胺基取代。由此產生之抗體變異體係以單價方式自絲狀噬菌體顆粒作為與包裝在各顆粒內之M13之基因III產物的融合物呈現。接著針對如本文中所揭示之生物活性(例如結合親和力)篩選噬菌體呈現之變異體。為鑑別修飾之候選高變區位點，可執行丙胺酸掃描突變誘發以鑑別顯著有助於抗原結合之高變區殘基。或者或另外，其可有益於分析抗原-抗體複合物之晶體結構以鑑別抗體與CD79b多肽之間的接觸點。該等接觸殘基及相鄰殘基為根據本文中詳述之技術進行取代之候選者。一旦產生該等變異體後，使變異體組經受如本文所述之篩選且可為進一步發展而選擇在一或多個相關檢定中具有優良特性之抗體。

編碼抗-CD79b抗體之胺基酸序列變異體之核酸分子係藉由此項技術中已知之多種方法來製備。此等方法包括(但不限於)自天然來源(在天然存在之胺基酸序列變異體之情況下)分離或藉由早先製備之變異體或非變異體形式之抗-CD79b抗體的寡核苷酸介導(或定點)突變誘發、PCR突變誘發及盒突變誘發來製備。

E.抗-CD79b抗體之修飾

抗-CD79b抗體之共價修飾包括在本發明之範疇內。共價修飾之一種類型包括使抗-CD79b抗體之靶向胺基酸殘基與能夠與抗-CD79b抗體之所選側鏈或N或C末端殘基反應的有機衍生劑反應。用雙官能試劑衍生化(例如)適用於使抗-CD79b抗體與不溶於水之支撐物基質或表面交聯以供用於純化抗-CD79b抗體之方法使用，且反之亦然。常用交聯劑包括(例如)1,1-雙(重氮乙醯基)-2-苯乙烷、戊二醛、N-羥基丁二醯亞胺酯(例如與4-疊氮基水楊酸形成之酯)、同型雙官能醯亞胺酯(包括二丁二醯亞胺酯，諸如3,3'-二硫基雙(丁二醯亞胺基丙酸酯))、雙官能順丁烯二醯亞胺(諸如雙-N-順丁烯二醯亞胺基-1,8-辛烷)及諸如甲基-3-[(對疊氮基苯基)二硫基]丙醯亞胺酯之藥劑。

其他修飾包括使麩醯胺醯基及天冬醯胺醯基殘基分別脫醯胺形成相應麩胺醯基及天冬胺醯基殘基；脯胺酸及離胺酸之羥基化；絲胺醯基或蘇胺醯基殘基之羥基之磷酸化；離胺酸、精胺酸及組胺酸側鏈之α-胺基之甲基化[T.E. Creighton, **Proteins: Structure and Molecular Properties**, W.H. Freeman & Co., San Francisco，第79-86頁(1983)]；N末端胺之乙醯化；及任何C末端羧基之醯胺化。

包括在本發明之範疇內的對抗-CD79b抗體之共價修飾的另一種類型包含改變抗體或多肽之天然糖基化模式。出於本文之目的，"改變天然糖基化模式"意欲意謂刪去一或多個存在於天然序列抗-CD79b抗體中之碳水化合物部分(藉由移除基礎糖基化位點或藉由以化學及/或酶促方式刪去糖基化而達成)，及/或添加一或多個不存在於天然序列抗-CD79b抗體中之糖基化位點。另外，該片語包括天然蛋白質之糖基化之質變，包含各種所存在之碳水化合物部分之性質及比例的變化。

抗體及其他多肽之糖基化通常為N-連接或O-連接。N-連接係指碳水化合物部分連接於天冬醯胺殘基之側鏈。三肽序列天冬醯胺-X-

絲胺酸及天冬醯胺-X-蘇胺酸(其中X為除脯胺酸外之任何胺基酸)為碳水化合物部分酶促連接於天冬醯胺側鏈之識別序列。因此，多肽中此等三肽序列中之任一者之存在形成潛在糖基化位點。O-連接糖基化係指糖N-乙醯半乳糖胺、半乳糖或木糖中之一者連接於羥基胺基酸，該羥基胺基酸最常為絲胺酸或蘇胺酸，但亦可使用5-羥基脯胺酸或5-羥基離胺酸。

便利地藉由改變胺基酸序列來達成將糖基化位點添加至抗體中以便使其含有上述三肽序列中之一或多者(對於N-連接糖基化位點而言)。亦可藉由將一或多個絲胺酸或蘇胺酸殘基添加至原始抗-CD79b抗體之序列中或由其取代來作出該變化(對於O-連接糖基化位點而言)。抗-CD79b抗體胺基酸序列可視情況經由DNA水平之變化，尤其藉由使編碼抗-CD79b抗體之DNA於預選鹼基處突變以便產生將轉譯為所需胺基酸之密碼子來改變。

另一增加抗-CD79b抗體上之碳水化合物部分之數目的方式為糖苷與多肽之化學或酶促偶合。該等方法在此項技術中已有描述，例如1987年9月11日公開之WO 87/05330，及Aplin與Wriston, **CRC Crit. Rev. Biochem.**，第259-306頁，(1981)。

存在於抗-CD79b抗體上之碳水化合物部分的移除可以化學方法或以酶促方法或藉由編碼用作糖基化靶之胺基酸殘基之密碼子的突變取代來實現。化學脫糖基化技術在此項技術中係已知的且例如由Hakimuddin，等人，**Arch. Biochem. Biophys., 259**:52 (1987)及Edge等人，**Anal. Biochem., 118**:131 (1981)所描述。多肽上之碳水化合物部分之酶促裂解可如Thotakura等人，**Meth. Enzymol., 138**:350 (1987)所述藉由使用各種內切醣苷酶及外切醣苷酶來達成。

對抗-CD79b抗體之共價修飾之另一類型包含以美國專利第4,640,835號、第4,496,689號、第4,301,144號、第4,670,417號、第

4,791,192號或第4,179,337號中所述之方式使抗體連接於各種非蛋白質性聚合物(例如聚乙二醇(PEG)、聚丙二醇或聚氧化烯)中之一者。抗體亦可包埋於例如藉由凝聚技術或藉由界面聚合所製備之微膠囊(分別例如為羥甲基纖維素或明膠-微膠囊及聚-(甲基丙烯酸甲酯)微膠囊)中；包埋於膠態藥物傳遞系統(例如，脂質體、白蛋白微球體、微乳液、奈米粒子及奈米膠囊)中；或包埋於巨乳液中。該等技術係揭示於**Remington's_Pharmaceutical Sciences**，第16版，Oslo, A., Ed., (1980)中。

本發明之抗-CD79b抗體亦可以形成嵌合分子之方式進行修飾，該等分子包含與另一異源多肽或胺基酸序列融合之抗-CD79b抗體。

在一實施例中，此類嵌合分子包含抗-CD79b抗體與提供抗-標籤抗體可選擇性結合於之抗原決定基之標籤多肽的融合物。抗原決定基標籤一般被置於抗-CD79b抗體之胺基或羧基末端處。抗-CD79b抗體之該等抗原決定基標籤形式之存在可使用針對標籤多肽之抗體來偵測。又，抗原決定基標籤之提供使抗-CD79b抗體能夠容易地藉由親和力純化使用抗-標籤抗體或結合於抗原決定基標籤之另一類型之親和力基質來純化。各種標籤多肽及其各自抗體在此項技術中係熟知的。實例包括聚-組胺酸(poly-his)或聚-組胺酸-甘胺酸(poly-his-gly)標籤；flu HA標籤多肽及其抗體12CA5[Field等人，**Mol. Cell. Biol.**, **8**:2159-2165 (1988)]；c-myc標籤及其8F9、3C7、6E10、G4、B7及9E10抗體[Evan等人，**Molecular and Cellular Biology**, **5**:3610-3616 (1985)]；及單純疱疹病毒(Herpes Simplex virus)醣蛋白D(gD)標籤及其抗體[Paborsky等人，**Protein Engineering**, **3**(6):547-553 (1990)]。其他標籤多肽包括Flag-肽[Hopp等人，**BioTechnology**, **6**:1204-1210 (1988)]；KT3抗原決定基肽[Martin等人，**Science**, **255**:192-194 (1992)]；α-微管蛋白抗原決定基肽[Skinner等人，**J. Biol. Chem.**,

266:15163-15166 (1991)]；及T7基因10蛋白肽標籤[Lutz-Freyermuth等人，**Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87**:6393-6397 (1990)]。

在一替代性實施例中，嵌合分子可包含抗-CD79b抗體與免疫球蛋白或免疫球蛋白之特定區域之融合物。對於嵌合分子之二價形式(亦稱為"免疫黏附素")而言，此類融合可為與IgG分子之Fc區之融合。Ig融合物較佳包括可溶性(跨膜域缺失或失活)形式之抗-CD79b抗體之取代以替代Ig分子內之至少一個可變區。在一尤其較佳的實施例中，免疫球蛋白融合物包括IgG1分子之鉸鏈、CH_2及CH_3，或鉸鏈、CH_1、CH_2及CH_3區。關於免疫球蛋白融合物之產生，亦參見1995年6月27日頒布之美國專利第5,428,130號。

F.抗-CD79b抗體之製備

以下描述主要係關於藉由培養經含有編碼抗-CD79b抗體之核酸之載體轉型或轉染的細胞產生抗-CD79b抗體。當然，預期可使用此項技術中所熟知之替代性方法來製備抗-CD79b抗體。舉例而言，適當胺基酸序列或其部分可藉由直接肽合成使用固相技術來產生[參見例如Stewart等人，**Solid-Phase Peptide Synthesis**, W.H. Freeman Co., San Francisco, CA (1969)；Merrifield, **J. Am. Chem. Soc.**, **85**:2149-2154 (1963)]。活體外蛋白質合成可使用手動技術或藉由自動裝置來執行。自動合成可例如使用應用生物系統肽合成器(Foster City, CA)使用製造商之說明書來實現。抗-CD79b抗體之各種部分可以化學方法分別合成且使用化學或酶促方法組合以產生所需抗-CD79b抗體。

1.編碼抗-CD79b抗體之DNA之分離

編碼抗-CD79b抗體之DNA可自由咸信具有抗-CD79b抗體mRNA且以可偵測量表現該mRNA之組織製備的cDNA庫獲得。因此，人類抗-CD79b抗體DNA可方便地自由人類組織製備之cDNA庫獲得。編碼抗-CD79b抗體之基因亦可自染色體組庫獲得或藉由已知合成程序(例

如自動核酸合成)獲得。

可用經設計用以鑑別所關注之基因或由該基因編碼之蛋白質的探針(諸如至少約20-80個鹼基之寡核苷酸)篩選庫。用所選探針篩選cDNA或染色體組庫可使用標準程序進行，諸如Sambrook等人，**Molecular Cloning: A Laboratory Manual**(New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989)中所述。分離編碼抗-CD79b抗體之基因之替代性方式為使用PCR方法[Sambrook等人，見上；Dieffenbach等人，**PCR Primer: A Laboratory Manual** (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1995)]。

用於篩選cDNA庫之技術在此項技術中係熟知的。經選擇作為探針之寡核苷酸序列應具有足夠長度且足夠明顯以將假陽性減至最少。寡核苷酸較佳經標記以便使其可在與所篩選之庫中之DNA雜交後被偵測到。標記方法在此項技術中係熟知的，且包括使用如^{32}P標記之ATP之放射性標記、生物素標記或酶標記。包括中等嚴格性及高嚴格性之雜交條件係於Sambrook等人(見上)中提供。

可將該等庫篩選方法中所鑑別之序列與寄存於公開資料庫(諸如GenBank)或其他私用序列資料庫中及可在該等資料庫中得到之其他已知序列比較及比對。分子之指定區域內或整個全長序列之序列一致性(在胺基酸水平或核苷酸水平下)可使用此項技術中已知及如本文所述之方法來測定。

具有蛋白質編碼序列之核酸可藉由使用本文首次所揭示之推斷胺基酸序列且必要時使用習知引子延伸程序(如Sambrook等人(見上)中所述)來篩選所選cDNA或染色體組庫以偵測前驅體並加工可能未反轉錄成cDNA之mRNA之中間物而獲得。

2.宿主細胞之選擇及轉型

用本文所述用於抗-CD79b抗體產生之表現或選殖載體將宿主細

胞轉染或轉型且培養於酌情改良之習知營養培養基中以誘導啟動子、選擇轉化子或擴增編碼所需序列之基因。諸如培養基、溫度、pH值及其類似條件之培養條件可由熟習技術者在無需不當實驗之情況下加以選擇。一般而言，使細胞培養物之生產力達到最大之原理、方案及實用技術可見於**Mammalian Cell Biotechnology: a Practical Approach**, M. Butler編(IRL Press, 1991)及Sambrook等人(見上)中。

旨在將DNA引入宿主中以便使DNA可以染色體外形式或以染色體整合子形式複製的真核細胞轉染及原核細胞轉型之方法為一般熟習技術者所知，例如$CaCl_2$、$CaPO_4$、脂質體介導、聚乙二醇/DMSO及電穿孔。視所用之宿主細胞而定，使用適合於該等細胞之標準技術執行轉型。如Sambrook等人(見上)中所述利用氯化鈣之鈣處理或電穿孔一般被用於原核生物。用根癌土壤桿菌(*Agrobacterium tumefaciens*)感染被用於某些植物細胞之轉型，如Shaw等人，**Gene**, **23**:315 (1983)及1989年6月29日公開之WO 89/05859所述。對於無該等細胞壁之哺乳動物細胞而言，可利用Graham及van der Eb, **Virology**, **52**:456-457 (1978)之磷酸鈣沈澱方法。哺乳動物細胞宿主系統轉染之一般態樣已描述於美國專利第4,399,216號中。轉型至酵母中通常係根據Van Solingen等人，**J. Bact.**, **130**:946 (1977)及Hsiao等人，**Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)**, **76**:3829 (1979)之方法進行。然而，亦可使用諸如藉由核顯微注射、電穿孔、與完整細胞之細菌原生質體融合或聚陽離子(例如聚凝胺、聚鳥胺酸)將DNA引入細胞中之其他方法。關於使哺乳動物細胞轉型之各種技術，參見Keown等人，**Methods_in Enzymology**, 185:527-537 (1990)及Mansour等人，**Nature**, 336:348-352 (1988)。

本文中適合用於選殖或表現載體中之DNA的宿主細胞包括原核生物、酵母或高等真核生物細胞。

a.原核宿主細胞

合適之原核生物包括(但不限於)古細菌及真細菌，諸如革蘭氏陰性(Gram-negative)或革蘭氏陽性(Gram-positive)有機體，例如腸內菌科(Enterobacteriaceae)，諸如大腸桿菌。各種大腸桿菌菌株為可公開獲得的，諸如大腸桿菌K12菌株MM294(ATCC 31,446)；大腸桿菌X1776(ATCC 31,537)；大腸桿菌菌株W3110(ATCC 27,325)及K5 772(ATCC 53,635)。其他合適之原核宿主細胞包括腸內菌科，諸如埃希氏菌屬(*Escherichia*)，例如大腸桿菌；腸桿菌屬(*Enterobacter*)；伊文氏桿菌屬(*Erwinia*)；克雷伯氏菌(*Klebsiella*)；變形桿菌屬(*Proteus*)；沙門氏菌屬(*Salmonella*)，例如鼠傷寒沙門氏菌(*Salmonella typhimurium*)；沙雷氏菌屬(*Serratia*)，例如黏質沙雷氏菌(*Serratia marcescans*)；及志賀桿菌屬(*Shigella*)；以及芽孢桿菌屬(*Bacilli*)，諸如枯草桿菌(*B. subtilis*)及地衣芽孢桿菌(*B. licheniformis*)(例如1989年4月12日公開之DD 266,710中所揭示之地衣芽孢桿菌41P)；假單胞菌屬(*Pseudomonas*)，諸如綠膿桿菌(*P. aeruginosa*)；根瘤菌屬(*Rhizobia*)；透明顫菌屬(*Vitreoscilla*)；副球菌屬(*Paracoccus*)；及鏈黴菌屬(*Streptomyces*)。此等實例為說明性的而非限制性的。菌株W3110為一種尤其較佳的宿主或親本宿主，此係因為其為用於重組DNA產物醱酵之常見宿主菌株。較佳地，宿主細胞分泌最少量之蛋白水解酶。舉例而言，菌株W3110(Bachmann, **Cellular and Molecular Biology**，第2卷(Washington, D.C.: American Society for Microbiology, 1987)，第1190-1219頁；ATCC寄存編號27,325)可經修飾以實現編碼對於宿主為內源性之蛋白質之基因的基因突變，該等宿主之實例包括大腸桿菌W3110菌株1A2，其具有完整基因型*tonA*；大腸桿菌W3110菌株9E4，其具有完整基因型*tonA ptr3*；大腸桿菌W3110菌株27C7(ATCC 55,244)，其具有完整基因型*tonA ptr3 phoA E15 (argF-lac)169 degP*

ompT kan^{r}；大腸桿菌W3110菌株37D6，其具有完整基因型*tonA ptr3 phoA E15 (argF-lac)169 degP ompT rbs7 ilvG kan*^{r}；大腸桿菌W3110菌株40B4，其為具有非卡那黴素(kanamycin)抗性*degP*缺失突變之菌株37D6；大腸桿菌W3110菌株33D3，其具有基因型W3110 Δ*fhuA (ΔtonA) ptr3 lac Iq lacL8 ΔompTΔ(nmpc-fepE) degP41 kan*^{R}(美國專利第5,639,635號)；及具有1990年8月7日頒布之美國專利第4,946,783號中所揭示之突變周質蛋白酶的大腸桿菌菌株。其他菌株及其衍生物亦為合適的，諸如大腸桿菌294(ATCC 31,446)、大腸桿菌B、大腸桿菌λ 1776(ATCC 31,537)及大腸桿菌RV308(ATCC 31,608)。此等實例為說明性的而非限制性的。用於建構具有指定基因型之上述細菌中之任一者的衍生物之方法在此項技術中係已知的且例如描述於Bass等人，**Proteins, 8**:309-314 (1990)中。一般有必要考慮細菌細胞中之複製子之複製性來選擇適當細菌。舉例而言，當使用諸如pBR322、pBR325、pACYC177或pKN410之熟知質體供應複製子時，大腸桿菌、沙雷氏菌屬或沙門氏菌屬物種可適當地用作宿主。通常，宿主細胞應分泌最少量之蛋白水解酶，且可希望將其他蛋白酶抑制劑併入細胞培養物中。或者，活體外選殖方法為合適的，例如PCR或其他核酸聚合酶反應。

全長抗體、抗體片段及抗體融合蛋白可在細菌中產生，尤其當不需要糖基化及Fc效應功能時，諸如當治療性抗體與細胞毒性劑(例如毒素)共軛且免疫共軛物獨立顯示對於腫瘤細胞破壞之有效性時。全長抗體在循環中具有較長半衰期。大腸桿菌中之產生更快且更有成本效率。關於抗體片段及多肽在細菌中之表現，參見例如U.S. 5,648,237 (Carter等人)、U.S. 5,789,199(Joly等人)及U.S. 5,840,523 (Simmons等人)，其描述用於最優化表現及分泌之轉譯起始區(TIR)及信號序列，此等專利以引用的方式併入本文中。在表現後，將抗體自

大腸桿菌細胞糊狀物分離於可溶性部分中且可視同型而定經由例如蛋白質A或G管柱純化。最終純化可類似於用於純化例如表現於CHO細胞中之抗體的方法而進行。

b.真核宿主細胞

除原核生物外，諸如絲狀真菌或酵母之真核微生物為適合用於編碼抗-CD79b抗體之載體的選殖或表現宿主。釀酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)為常用低等真核宿主微生物。其他者包括粟酒裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)(Beach及Nurse, **Nature**, 290: 140 [1981]；1985年5月2日公開之EP 139,383)；刻魯維拉菌屬(*Kluyveromyces*)宿主(美國專利第4,943,529號；Fleer等人，**Bio/Technology**, 9:968-975 (1991))，諸如乳酸刻魯維拉菌(*K. lactis*)(MW98-8C、CBS683、CBS4574；Louvencourt等人，**J. Bacteriol.**, 154(2):737-742 [1983])、脆壁刻魯維拉菌(*K. fragilis*)(ATCC 12,424)、保加利亞刻魯維拉菌(*K. bulgaricus*)(ATCC 16,045)、威克刻魯維拉菌(*K. wickeramii*)(ATCC 24,178)、華特刻魯維拉菌(*K. waltii*)(ATCC 56,500)、果蠅刻魯維拉菌(*K. drosophilarum*)(ATCC 36,906；Van den Berg等人，**Bio/Technology**, 8:135 (1990))、耐熱刻魯維拉菌(*K. thermotolerans*)及馬克斯刻魯維拉菌(*K. marxianus*)；耶氏酵母屬(*yarrowia*)(EP 402,226)；甲醇酵母(*Pichia pastoris*)(EP 183,070；Sreekrishna等人，**J. Basic Microbiol.**, 28:265-278 [1988])；念珠菌屬(*Candida*)；里氏木黴(*Trichoderma reesia*)(EP 244,234)；粗厚神經胞子菌(*Neurospora crassa*)(Case等人，**Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 76:5259-5263 [1979])；許旺酵母屬(*Schwanniomyces*)，諸如西方許旺酵母(*Schwanniomyces occidentalis*)(1990年10月31日公開之EP 394,538)；及絲狀真菌，諸如紅黴屬(*Neurospora*)、青黴菌屬(*Penicillium*)、彎頸黴菌屬

(*Tolypocladium*)(1991年1月10日公開之WO 91/00357)及麴菌屬(*Aspergillus*)宿主，諸如構巢麴菌(*A. nidulans*)(Ballance等人，**Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 112:284-289 [1983]；Tilburn等人，**Gene**, 26:205-221 [1983]；Yelton等人，**Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 81: 1470-1474 [1984])及黑麴菌(*A. niger*)(Kelly及Hynes, **EMBO J.**, 4:475-479 [1985])。甲醇酵母在本文中為合適的且包括(但不限於)能夠藉助於甲醇生長之酵母，其選自由漢森酵母屬(*Hansenula*)、念珠菌屬、克勒克酵母屬(*Kloeckera*)、畢赤酵母屬(*Pichia*)、酵母屬(*Saccharomyces*)、球擬酵母屬(*Torulopsis*)及紅酵母屬(*Rhodotorula*)組成之屬。為此類酵母之實例的特定種類列表可見於C. Anthony, **The Biochemistry of Methylotrophs**, 269 (1982)中。

適合用於表現糖基化抗-CD79b抗體之宿主細胞係源自多細胞有機體。無脊椎動物細胞之實例包括昆蟲細胞，諸如果蠅(Drosophila)S2及夜蛾(Spodoptera)Sf9；以及植物細胞，諸如棉花、玉米、馬鈴薯、大豆、矮牽牛、番茄及煙草之細胞培養物。已鑑別出眾多桿狀病毒菌株及變異體以及來自諸如草地黏蟲(*Spodoptera frugiperda*)(毛蟲)、埃及伊蚊(*Aedes aegypti*)(蚊子)、白紋伊蚊(*Aedes albopictus*) (蚊子)、黑腹果蠅(*Drosophila melanogaster*)(果蠅)及家蠶(*Bombyx mori*)之宿主的相應受納昆蟲宿主細胞。用於轉染之各種病毒株可公開獲得，例如，苜蓿丫紋夜蛾(*Autographa californica*)NPV之L-1變異體及家蠶NPV之Bm-5菌株，且該等病毒可根據本發明用作本文中之病毒，尤其用於轉染草地黏蟲細胞。

然而，最關注於脊椎動物細胞，且脊椎動物細胞在培養物(組織培養物)中之繁殖已變成常規程序。適用哺乳動物宿主細胞株之實例為由SV40轉型之猴腎CV1株(COS-7，ATCC CRL 1651)；人類胚腎株(經次選殖生長於懸浮培養物中之293或293細胞，Graham等人，**J.**

Gen Virol. 36:59 (1977))；幼小倉鼠腎細胞(BHK，ATCC CCL 10)；中國倉鼠卵巢細胞/-DHFR(CHO，Urlaub等人，**Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 77:4216 (1980))；小鼠塞特利氏細胞(sertoli cell)(TM4，Mather, **Biol. Reprod.** 23:243-251 (1980))；猴腎細胞(CV1 ATCC CCL 70)；非洲綠猴腎細胞(VERO-76，ATCC CRL-1587)；人類宮頸癌細胞(HELA，ATCC CCL 2)；犬腎細胞(MDCK，ATCC CCL 34)；布法羅大鼠(buffalo rat)肝細胞(BRL 3A，ATCC CRL 1442)；人類肺細胞(W138，ATCC CCL 75)；人類肝細胞(Hep G2，HB 8065)；小鼠乳房腫瘤(MMT 060562，ATCC CCL51)；TRI細胞(Mather等人，**Annals N.Y. Acad. Sci.** 383:44-68 (1982))；MRC 5細胞；FS4細胞；及人類肝腫瘤細胞株(Hep G2)。

用上述用於抗-CD79b抗體產生之表現或選殖載體將宿主細胞轉型且培養於酌情改良之習知營養培養基中以誘導啟動子、選擇轉化子或擴增編碼所需序列之基因。

3.**可複製載體之選擇及使用**

對於本發明之抗體之重組產生而言，將編碼其之核酸(例如cDNA或染色體組DNA)分離且插入可複製載體中以供進一步選殖(DNA擴增)或以供表現。使用習知程序(例如，藉由使用能夠特異性結合於編碼抗體之重鏈及輕鏈之基因的寡核苷酸探針)來容易地將編碼抗體之DNA分離及定序。可利用許多載體。載體之選擇在某種程度上視所用之宿主細胞而定。一般，較佳宿主細胞為原核或真核(一般為哺乳動物)來源。

載體可(例如)呈質體、黏粒(cosmid)、病毒顆粒或噬菌體之形式。可藉由各種程序將適當核酸序列插入載體中。一般而言，使用此項技術中已知之技術將DNA插入適當限制性核酸內切酶位點中。載體組件一般包括(但不限於)信號序列、複製起點、一或多個標記基因、

增強子元件、啟動子及轉錄終止序列中之一或多者。含有此等組件中之一或多者之合適載體的建構利用熟習技術者已知之標準連接枝術。

CD79b不僅可直接重組產生，而且可以與可為信號序列之異源多肽或於成熟蛋白質或多肽之N末端處具有特異性裂解位點之其他多肽的融合多肽形式產生。一般而言，信號序列可為載體之組件，或其可為插入載體中之編碼抗-CD79b抗體之DNA的一部分。信號序列可為例如選自鹼性磷酸酶、青黴素酶、lpp或熱穩定性腸毒素II前導序列之群之原核信號序列。對於酵母分泌而言，信號序列可例如為酵母轉化酶前導序列、α因子前導序列(包括酵母及刻魯維拉菌α-因子前導序列，後者描述於美國專利第5,010,182號中)或酸性磷酸酶前導序列、白色念珠菌(*C. albicans*)葡糖澱粉酶前導序列(1990年4月4日公開之EP362,179)或1990年11月15日公開之WO 90/13646中所述之信號序列。在哺乳動物細胞表現中，哺乳動物信號序列可用於指導蛋白質之分泌，諸如來自相同或相關物種之分泌性多肽之信號序列，以及病毒分泌性前導序列。

a.原核宿主細胞

編碼本發明之抗體之多肽組分的聚核苷酸序列可使用標準重組技術來獲得。所需聚核苷酸序列可自諸如融合瘤細胞之抗體產生細胞分離及定序。或者，聚核苷酸可使用核苷酸合成器或PCR技術來合成。一旦獲得後，將編碼多肽之序列插入能夠在原核宿主中複製及表現異源聚核苷酸之重組載體中。可利用且此項技術中已知之許多載體可用於本發明之目的。適當載體之選擇將主要視待插入載體中之核酸之尺寸及待以載體轉型之特定宿主細胞而定。各載體含有各種組分，此視其功能(擴增或表現異源聚核苷酸，或兩者)及其與其所位於之特定宿主細胞之相容性而定。

一般而言，關於此等宿主使用含有源自與宿主細胞相容之物種

之複製子及控制序列的質體載體。表現及選殖載體皆含有使載體能夠在一或多種所選宿主細胞中複製之核酸序列，以及能夠在轉型細胞中提供表型選擇之標記序列。對於各種細菌、酵母及病毒而言，該等序列係熟知的。來自含有編碼胺苄青黴素(ampicillin，Amp)及四環素(tetracycline，Tet)抗性之基因且因此提供鑑別轉型細胞之容易方式的質體pBR322之複製起點適合於大多數革蘭氏陰性細菌，2μ質體起點適合於酵母，且各種病毒起點(SV40、多形瘤、腺病毒、VSV或BPV)適用於在哺乳動物細胞中選殖載體。pBR322、其衍生物或其他微生物質體或噬菌體亦可含有或經修飾而含有可由微生物有機體用於表現內源性蛋白質之啟動子。用於表現特定抗體之pBR322衍生物之實例係詳述於Carter等人之美國專利第5,648,237號中。

另外，關於此等宿主可使用含有與宿主微生物相容之複製子及控制序列的噬菌體載體作為轉型載體。舉例而言，諸如λGEM.TM.-11之噬菌體可用於製備能夠用於使諸如大腸桿菌LE392之易感性宿主細胞轉型之重組載體。

本發明之表現載體可包含兩個或兩個以上啟動子-順反子對，其編碼多肽組分之每一者。啟動子為位於順反子上游(5')之未轉譯的調節序列，其中該順反子調節該序列之表現。原核啟動子通常分成兩種類型，亦即可誘導型及組成型。可誘導型啟動子為響應於培養條件之變化(例如營養物之存在與否或溫度變化)在其控制之下引起順反子之轉錄水平增加的啟動子。

為各種潛在宿主細胞所識別之大量啟動子係眾所周知的。可藉由經由限制酶消化自來源DNA移除啟動子且將經分離之啟動子序列插入本發明之載體中而將所選啟動子可操作地連接於編碼輕鏈或重鏈之順反子DNA。天然啟動子序列及許多異源啟動子皆可用於指導靶基因之擴增及/或表現。在一些實施例中，利用異源啟動子，此係因為其

一般允許所表現之靶基因與天然靶多肽啟動子相比有更多的轉錄及更高的產率。

為各種潛在宿主細胞所識別之啟動子係眾所周知的。適合用於原核宿主之啟動子包括PhoA啟動子、β-半乳聚糖酶及乳糖啟動子系統[Chang等人，**Nature**, 275:615 (1978)；Goeddel等人，**Nature**, 281:544 (1979)]、鹼性磷酸酶、色胺酸(trp)啟動子系統[Goeddel, **Nucleic Acids Res.**, 8:4057 (1980)；EP 36,776]及雜合啟動子，諸如*tac*[deBoer等人，**Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 80:21-25 (1983)]或*trc*啟動子。用於細菌系統之啟動子亦將含有可操作地連接於編碼抗-CD79b抗體之DNA的夏因-達爾瓦諾(Shine-Dalgarno，S.D.)序列。然而，在細菌中起作用之其他啟動子(諸如其他已知細菌或噬菌體啟動子)亦為合適的。已公開其核苷酸序列，藉此使技工能夠使用連接子或接頭可操作地將其連接於編碼靶輕鏈及重鏈之順反子(Siebenlist等人(1980) Cell 20: 269)以供應任何所需的限制性位點。

在本發明之一態樣中，重組載體內之各順反子包含分泌信號序列組件，其指導所表現之多肽移位穿過膜。一般而言，信號序列可為載體之組件，或其可為插入載體中之靶多肽DNA之一部分。出於本發明之目的，所選之信號序列應為由宿主細胞所識別及加工(亦即由信號肽酶所裂解)之序列。對於並不識別及加工對於異源多肽為天然之信號序列之原核宿主細胞而言，信號序列經例如選自由鹼性磷酸酶、青黴素酶、Ipp或熱穩定性腸毒素II(STII)前導序列、LamB、PhoE、PelB、OmpA及MBP組成之群之原核信號序列取代。在本發明之一實施例中，用於表現系統之兩種順反子之信號序列為STII信號序列或其變異體。

在另一態樣中，根據本發明之免疫球蛋白之產生可在宿主細胞之細胞質中發生，且因此並不需要每一順反子內存在分泌信號序列。

就此而言，使免疫球蛋白輕鏈及重鏈表現，加以摺疊及組裝以在細胞質內形成功能性免疫球蛋白。某些宿主菌株(例如，大腸桿菌*trxB*⁻菌株)提供有利於二硫鍵形成之細胞質條件，藉此允許所表現之蛋白質亞單元之正確摺疊及組裝。Proba及Pluckthun *Gene*, 159:203 (1995)。

本發明提供一種表現系統，其中所表現之多肽組分之定量比率可加以調節以便使所分泌及正確組裝之本發明抗體的產率達到最大。該調節至少部分藉由同時調節多肽組分之轉譯強度來實現。

一種用於調節轉譯強度之技術係揭示於Simmons等人之美國專利第5,840,523號中。其利用順反子內之轉譯起始區(TIR)之變異體。對於給定TIR而言，可在一定轉譯強度範圍內形成一系列胺基酸或核酸序列變異體，藉此提供用於針對特定鏈之所需表現水平調整此因素的習知方式。TIR變異體可藉由習知突變誘發技術產生，該等技術導致可改變胺基酸序列之密碼子變化，不過核苷酸序列之沉默變化為較佳。TIR之變化可包括(例如)夏因-達爾瓦諾序列之數目或間距之變化，以及信號序列之變化。一種用於產生突變信號序列之方法為在不改變信號序列之胺基酸序列(亦即，變化為沉默的)之編碼序列開始時產生"密碼子庫"。此可藉由改變每一密碼子之第三核苷酸位置來實現；另外，諸如白胺酸、絲胺酸及精胺酸之一些胺基酸具有可能會增加庫製備之複雜性的多個第一及第二位置。此突變誘發方法係詳述於Yansura等人(1992) *METHODS: A Companion to Methods in Enzymol.* 4:151-158中。

較佳地，一組載體係在其中各順反子之一定TIR強度範圍內產生。此有限組提供各鏈之表現水平以及所需抗體產物之產率在各種TIR強度組合下之比較。TIR強度可如Simmons等人之美國專利第5,840,523號中所詳述藉由量化報導體基因之表現水平測定。基於轉譯強度比較，選擇所需個別TIR以組合於本發明之表現載體建構體中。

b.真核宿主細胞

載體組件一般包括(但不限於)下列各者中之一或多者：信號序列、複製起點、一或多個標記基因、增強子元件、啟動子及轉錄終止序列。

(1)信號序列組件

用於真核宿主細胞之載體亦可含有於所關注之成熟蛋白質或多肽之N末端處具有特異性裂解位點的信號序列或其他多肽。所選之異源信號序列較佳為由宿主細胞所識別及加工(亦即由信號肽酶所裂解)之序列。在哺乳動物細胞表現中，可使用哺乳動物信號序列以及病毒分泌性前導序列(例如單純疱疹gD信號)。

將該前驅體區域之DNA在閱讀框架中連接於編碼抗體之DNA。

(2)複製起點

一般而言，哺乳動物表現載體無需複製起點組件。舉例而言，通常可使用SV40起點，原因僅在於其含有早期啟動子。

(3)選擇基因組件

表現及選殖載體通常將含有選擇基因，亦稱為可選擇標記。典型選擇基因編碼具有下列作用之蛋白質：(a)賦予對抗生素或其他毒素(例如，胺苄青黴素、新黴素(neomycin)、甲胺喋呤或四環素)之抗性；(b)補充營養缺陷型缺乏；或(c)供應不可得自複合培養基之關鍵營養物，例如編碼芽孢桿菌之D-丙胺酸消旋酶之基因。

選擇方案之一實例利用藥物來阻滯宿主細胞之生長。彼等成功地經異源基因轉型之細胞產生賦予藥物抗性之蛋白質且因此經受得住該選擇方案。該顯性選擇之實例使用藥物新黴素、黴酚酸及濕黴素。

適合於哺乳動物細胞之可選擇標記之一實例為可實現鑑別能夠接納編碼抗-CD79b抗體之核酸之細胞的彼等標記，諸如DHFR或胸苷激酶、金屬硫蛋白-I及金屬硫蛋白-II(較佳為靈長類金屬硫蛋白基

因)、腺苷脫胺酶、鳥胺酸脫羧酶等。當利用野生型DHFR時，適當宿主細胞為缺乏DHFR活性之CHO細胞株(例如，ATCC CRL-9096)，其如Urlaub等人，**Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 77:4216 (1980)所述來製備及繁殖。舉例而言，經DHFR選擇基因轉型之細胞最初係藉由將所有轉化子培養於含有甲胺喋呤(Mtx)(亦即DHFR之一種競爭性拮抗劑)之培養基中來鑑別。或者，可藉由於含有選擇劑之培養基中的細胞生長針對諸如胺基糖苷抗生素(例如卡那黴素、新黴素或G418)之可選擇標記來選擇用編碼抗體、野生型DHFR蛋白質及另一可選擇標記(諸如胺基糖苷3'-磷酸轉移酶(APH))之DNA序列轉型或共轉型的宿主細胞(尤其含有內源性DHFR之野生型宿主)。參見美國專利第4,965,199號。

適合用於酵母之選擇基因為存在於酵母質體YRp7中之*trp*1基因[Stinchcomb等人，**Nature**, 282:39 (1979)；Kingsman等人，**Gene**, 7:141 (1979)；Tschemper等人，**Gene**, 10:157 (1980)]。*trp*1基因為缺乏生長於色胺酸中之能力的酵母突變株(例如，ATCC第44076號或PEP4-1)提供選擇標記[Jones, **Genetics**, 85:12 (1977)]。

(4)啟動子組件

表現及選殖載體通常含有可操作地連接於編碼抗-CD79b抗體之核酸序列以指導mRNA合成之啟動子。為各種潛在宿主細胞所識別之啟動子係眾所周知的。

實際上，所有真核基因具有位於轉錄起始位點上游約25至30個鹼基處之AT富集區。在許多基因轉錄起始處上游70至80個鹼基處發現的另一序列為CNCAAT區，其中N可為任何核苷酸。在大多數真核基因之3'末端處為AATAAA序列，其可為用於將poly A尾添加至編碼序列之3'末端的信號。將所有此等序列適當地插入真核表現載體中。

適合用於酵母宿主之啟動序列之實例包括3-磷酸甘油酸激酶

[Hitzeman等人，**J. Biol. Chem.**, 255:2073 (1980)]或其他糖解酶[Hess等人，**J. Adv. Enzyme Reg.**, 7:149 (1968)；Holland, **Biochemistry**, 17:4900 (1978)](諸如烯醇化酶、甘油醛-3-磷酸脫氫酶、己糖激酶、丙酮酸脫羧酶、磷酸果糖激酶、葡糖-6-磷酸異構酶、3-磷酸甘油酸變位酶、丙酮酸激酶、磷酸丙糖異構酶、磷酸葡糖異構酶及葡萄糖激酶)之啟動子。

其他酵母啟動子(其為具有受生長條件控制之轉錄的其他優勢之可誘導型啟動子)為醇脫氫酶2、異細胞色素(isocytochrome)C、酸性磷酸酶、與氮代謝相關之降解酶、金屬硫蛋白、甘油醛-3-磷酸脫氫酶及負責麥芽糖及半乳糖利用之酶的啟動子區。適合用於酵母表現之載體及啟動子進一步描述於EP 73,657中。

抗-CD79b抗體自哺乳動物宿主細胞中載體之轉錄(例如)受自病毒(諸如多形瘤病毒、雞痘病毒(1989年7月5日公開之UK 2,211,504)、腺病毒(諸如腺病毒2)、牛乳頭狀瘤病毒、禽肉瘤病毒、細胞巨大病毒、反轉錄病毒、B型肝炎病毒及猿病毒40(SV40))之基因組獲得、自異源哺乳動物啟動子(例如，肌動蛋白啟動子或免疫球蛋白啟動子)獲得及自熱休克啟動子獲得之啟動子所控制，其限制條件為此等啟動子與宿主細胞系統相容。

SV40病毒之早期及晚期啟動子係作為亦含有SV40病毒複製起點之SV40限制性片段而方便地獲得。人類細胞巨大病毒之即刻早期啟動子係作為HindIII E限制性片段而方便地獲得。一種使用牛乳頭狀瘤病毒作為載體使DNA表現於哺乳動物宿主中之系統揭示於美國專利第4,419,446號中。此系統之修改描述於美國專利第4,601,978號中。關於人類β-干擾素cDNA在小鼠細胞中在來自單純疱疹病毒之胸苷激酶啟動子控制下之表現，亦參見Reyes等人，*Nature* 297:598-601 (1982)。或者，勞斯肉瘤病毒(Rous Sarcoma Virus)長末端重複序列可

用作啟動子。

(5)增強子元件組件

高等真核生物對編碼抗-CD79b抗體之DNA之轉錄可藉由將增強子序列插入載體中來增加。增強子為DNA之順式作用元件，通常約10至300 bp，其作用於啟動子以增加其轉錄。現已知許多增強子序列來自哺乳動物基因(血球蛋白、彈性蛋白酶、白蛋白、α-胎蛋白及胰島素)。然而，通常將使用來自真核細胞病毒之增強子。實例包括在複製起點之晚期側的SV40增強子(bp 100-270)、細胞巨大病毒早期啟動子增強子、在複製起點之晚期側的多形瘤增強子及腺病毒增強子。關於用於活化真核啟動子之增強元件，亦參見Yaniv, *Nature* 297:17-18 (1982)。雖然可將增強子於編碼抗-CD79b抗體之序列之位置5'或3'處拼接至載體中，但較佳位於啟動子之位點5'處。

(6)轉錄終止組件

用於真核宿主細胞(酵母、真菌、昆蟲、植物、動物、人類或來自其他多細胞生物之有核細胞)之表現載體亦將含有終止轉錄及使mRNA穩定所必需之序列。該等序列通常可得自真核或病毒DNA或cDNA之5'(且偶爾為3')未轉譯區域。此等區域含有在編碼抗-CD79b抗體之mRNA之未轉譯部分中轉錄為多聚腺嘌呤化片段的核苷酸區段。一種適用之轉錄終止組件為牛生長激素多聚腺嘌呤化區域。參見WO 94/11026及其中所揭示之表現載體。

適合於適應抗-CD79b抗體在重組脊椎動物細胞培養物中之合成的其他方法、載體及宿主細胞描述於Gething等人，**Nature**, 293:620-625 (1981)；Mantei等人，**Nature**, 281:40-46 (1979)；EP 117,060；及EP 117,058中。

4.培養宿主細胞

可將用於產生本發明之抗-CD79b抗體之宿主細胞培養於各種培

養基中。

a.原核宿主細胞

使用於產生本發明之多肽之原核細胞生長於此項技術中已知且適用於培養所選宿主細胞之培養基中。合適之培養基之實例包括魯利亞肉湯(luria broth，LB)加上必需營養補充劑。在一些實施例中，培養基亦含有基於表現載體之建構所選之選擇劑以選擇性允許含有表現載體之原核細胞生長。舉例而言，為使表現胺苄青黴素抗性基因之細胞生長將胺苄青黴素添加至培養基中。

亦可以適當濃度包括除碳、氮及無機磷酸鹽來源外之任何必需補充劑，其單獨引入或作為與另一補充劑或培養基之混合物(諸如複合氮源)引入。視情況，培養基可含有一或多種選自由麩胱甘肽、半胱胺酸、胱胺、硫代乙醇酸鹽、二硫赤藻糖醇及二硫蘇糖醇組成之群的還原劑。

於合適之溫度下培養原核宿主細胞。對於大腸桿菌生長而言，例如，較佳溫度範圍為約20℃至約39℃，更佳為約25℃至約37℃，甚至更佳為約30℃。培養基之pH值可為範圍為約5至約9之任何pH值，其主要視宿主有機體而定。對於大腸桿菌而言，pH值較佳為約6.8至約7.4，且更佳為約7.0。

若本發明之表現載體中使用可誘導型啟動子，則在適合於活化啟動子之條件下誘導蛋白質表現。在本發明之一態樣中，將PhoA啟動子用於控制多肽之轉錄。因此，為了誘導將經轉型之宿主細胞培養於磷酸鹽限制培養基中。較佳地，磷酸鹽限制培養基為C.R.A.P培養基(參見例如Simmons等人，*J. Immunol. Methods* (2002), 263:133-147)。如此項技術中所知，根據所使用之載體建構體，可使用各種其他誘導物。

在一實施例中，所表現之本發明多肽被分泌至宿主細胞之周質

中且自該周質回收。蛋白質回收通常涉及一般藉由諸如滲透休克、音波處理或溶胞之方式來破壞微生物。一旦細胞被破壞後，細胞碎片或完整細胞可藉由離心或過濾移除。可例如藉由親和樹脂層析將蛋白質進一步純化。或者，可將蛋白質輸送至培養基中且在其中進行分離。可自培養物移除細胞且為進一步純化所產生之蛋白質將培養物上清液過濾並濃縮。可進一步使用諸如聚丙烯醯胺凝膠電泳(PAGE)及西方墨點法檢定之通常已知之方法來將所表現之多肽分離及鑑別。

在本發明之一態樣中，藉由醱酵過程大批量進行抗體產生。各種大規模分批進料醱酵程序可用於製造重組蛋白質。大規模醱酵具有至少1000公升之容量，較佳約1,000至100,000公升之容量。此等醱酵器使用攪拌器葉輪來分配氧及營養物，尤其葡萄糖(較佳之碳源/能源)。小規模醱酵一般係指在不超過約100公升容量且容量範圍可為約1公升至約100公升之醱酵器中進行的醱酵。

在醱酵過程中，蛋白質表現之誘導通常係在細胞於合適條件下生長至所需密度(例如約180-220之OD_{550})(在該階段細胞處於穩定期初期)後開始。如此項技術中所知且如上文所述，根據所使用之載體建構體，可使用各種誘導物。可在誘導之前使細胞生長較短時間。通常將細胞誘導約12-50小時，不過亦可使用更長或更短之誘導時間。

為改善本發明之多肽之產率及品質，可改良各種醱酵條件。舉例而言，為改善所分泌之抗體多肽之正確組裝及摺疊，可使用過表現諸如Dsb蛋白(DsbA、DsbB、DsbC、DsbD及/或DsbG)或FkpA(一種具有伴隨蛋白活性之肽基脯胺醯基順,反-異構酶)之伴隨蛋白的其他載體來使宿主原核細胞共轉型。已證明伴隨蛋白有助於細菌宿主細胞中所產生之異源蛋白質之正確摺疊及溶解性。Chen等人(1999) *J Bio Chem* 274:19601-19605；Georgiou等人，美國專利第6,083,715號；Georgiou等人，美國專利第6,027,888號；Bothmann及Pluckthun (2000) *J. Biol.*

Chem. 275:17100-17105；Ramm及Pluckthun (2000) *J. Biol. Chem.* 275:17106-17113；Arie等人(2001) *Mol. Microbiol.* 39:199-210。

為將所表現之異源蛋白質(尤其具蛋白水解敏感性之彼等者)之蛋白水解減至最少，缺乏蛋白水解酶之某些宿主菌株可用於本發明。舉例而言，宿主細胞菌株可經修飾以實現編碼諸如蛋白酶III、OmpT、DegP、Tsp、蛋白酶I、蛋白酶Mi、蛋白酶V、蛋白酶VI及其組合之已知細菌蛋白酶之基因的基因突變。一些大腸桿菌蛋白酶缺乏菌株係可用的且(例如)描述於以下文獻中：Joly等人(1998)，見上；Georgiou等人，美國專利第5,264,365號；Georgiou等人，美國專利第5,508,192號；Hara等人，*Microbial Drug Resistance*, **2**:63-72 (1996)中。

在一實施例中，使用缺乏蛋白水解酶且用過表現一或多種伴隨蛋白之質體轉型之大腸桿菌菌株作為本發明之表現系統中之宿主細胞。

b.真核宿主細胞

諸如漢姆氏F10(Ham's F10)(Sigma)、最低必需培養基(MEM，Sigma)、RPMI-1640(Sigma)及杜氏改良伊格爾培養基(Dulbecco's Modified Eagle's Medium，DMEM，Sigma)之市售培養基適合於培養宿主細胞。另外，Ham等人，**Meth. Enz.** 58:44 (1979)、Barnes等人，**Anal. Biochem.** 102:255 (1980)、美國專利第4,767,704號、第4,657,866號、第4,927,762號、第4,560,655號或第5,122,469號、WO 90/03430、WO 87/00195或美國專利Re. 30,985中所述之培養基中之任一者可用作宿主細胞之培養基。此等培養基中之任一者可按需要用以下各物補充：激素及/或其他生長因子(諸如胰島素、轉鐵蛋白或表皮生長因子)、鹽(諸如氯化鈉、鈣、鎂及磷酸鹽)、緩衝液(諸如HEPES)、核苷酸(諸如腺苷及胸苷)、抗生素(諸如GENTAMYCIN™藥物)、痕量元素(經定義為通常以微莫耳範圍內之最終濃度存在的無機

化合物)及葡萄糖或等效能源。任何其他必要補充亦可以將為熟習此項技術者所知之適當濃度包括在內。諸如溫度、pH值及其類似條件之培養條件為先前用於經選擇以供表現之宿主細胞的彼等條件，且對於一般熟習技術者將顯而易見。

5.偵測基因擴增/表現

基因擴增及/或表現可直接在樣品中量測，例如藉由習知南方墨點法、旨在定量mRNA轉錄之北方墨點法[Thomas, **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 77:5201-5205 (1980)]、點漬法(dot blotting)(DNA分析)或原位雜交(使用適當經標記之探針，基於本文提供之序列)。或者，可利用能識別包括DNA雙鏈體、RNA雙鏈體及DNA-RNA雜合雙鏈體或DNA -蛋白質雙鏈體之特定雙鏈體的抗體。又可對抗體進行標記且可在雙鏈體結合於表面時進行檢定，以便在表面上形成雙鏈體後，能偵測到結合於雙鏈體之抗體之存在。

或者，基因表現可藉由諸如細胞或組織切片之免疫組織化學染色及對於細胞培養物或體液之檢定的免疫學方法來量測，以直接定量基因產物之表現。適用於免疫組織化學染色及/或樣品流體之檢定的抗體可為單株或多株抗體，且可在任何哺乳動物體內製備。方便地，可製備針對天然序列CD79b多肽或針對基於本文所提供之DNA序列之合成肽或針對與CD79b DNA融合且編碼特定抗體抗原決定基之外源性序列的抗體。

6.抗-CD79b抗體之純化

各形式之抗-CD79b抗體可自培養基或自宿主細胞溶胞物回收。若為膜結合的，則其可使用合適之清潔劑溶液(例如Triton-X 100)或藉由酶促裂解自膜釋放。用於表現抗-CD79b抗體之細胞可藉由各種物理或化學方法來破壞，諸如凍融循環、音波處理、機械破壞或細胞溶解劑。

可能希望自重組細胞蛋白質或多肽純化抗-CD79b抗體。下列程序例示合適之純化程序：用離子交換管柱分級分離；乙醇沈澱；逆相HPLC；二氧化矽層析或陽離子交換樹脂(諸如DEAE)層析；層析聚焦；SDS-PAGE；硫酸銨沈澱；使用例如Sephadex G-75之凝膠過濾；蛋白質A瓊脂糖凝膠管柱用以移除諸如IgG之污染物；及金屬螯合管柱用以結合抗原決定基標籤形式之抗-CD79b抗體。可利用各種蛋白質純化方法且該等方法在此項技術中係已知的並(例如)描述於Deutscher, **Methods in Enzymology**, 182 (1990)；Scopes, **Protein Purification: Principles and Practice**, Springer-Verlag, New York (1982)中。所選之純化步驟將(例如)視所用之製備方法及所製備之特定抗-CD79b抗體的性質而定。

當使用重組技術時，抗體可在細胞內於周質間隙中產生，或直接分泌至培養基中。若抗體在細胞內產生，則作為第一步驟，例如藉由離心或超濾來移除宿主細胞或溶胞片段之微粒碎片。Carter等人，**Bio/Technology** 10:163-167 (1992)描述一種用於分離被分泌至大腸桿菌之周質間隙中之抗體的程序。簡言之，在乙酸鈉(pH 3.5)、EDTA及苯甲基磺醯氟(PMSF)之存在下經約30 min將細胞糊狀物解凍。可藉由離心移除細胞碎片。在抗體被分泌至培養基中之情況下，一般首先使用市售蛋白質濃縮過濾器(例如，Amicon或Millipore Pellicon超濾單元)來濃縮來自該等表現系統之上清液。在上述步驟中之任一者中可包括諸如PMSF之蛋白酶抑制劑以抑制蛋白水解，且可包括抗生素以防止外來污染物之生長。

由細胞製備之抗體組合物可使用(例如)羥磷灰石層析法、凝膠電泳法、透析及親和性層析法來純化，其中親和性層析法為較佳純化技術。蛋白質A作為親和配位體之適宜性係視存在於抗體中之任何免疫球蛋白Fc域的種類及同型而定。蛋白質A可用於純化基於人類γ1、γ2

或γ4重鏈之抗體(Lindmark等人，**J. Immunol. Meth.** 62:1-13 (1983))。對所有小鼠同型及人類γ3推薦蛋白質G(Guss等人，**EMBO J.** 5:15671575 (1986))。雖然親和配位體所連接之基質最常見為瓊脂糖，但可使用其他基質。與用瓊脂糖可達成之流速及加工時間相比，機械穩定性基質(諸如，受控微孔玻璃或聚(苯乙烯二乙烯基)苯)允許更快之流速及更短之加工時間。在抗體包含C_H3域之情況下，Bakerbond ABX™樹脂(J. T. Baker, Phillipsburg, NJ)可用於純化。視待回收之抗體而定，亦可利用其他蛋白質純化技術，諸如用離子交換管柱分級分離、乙醇沈澱、逆相HPLC、二氧化矽層析、肝素SEPHAROSE™層析、陰離子或陽離子交換樹脂(諸如聚天冬胺酸管柱)層析、層析聚焦、SDS-PAGE及硫酸銨沈澱。

在任何初步純化步驟後，可使包含所關注之抗體及污染物之混合物經受使用pH值介於約2.5-4.5之間的溶離緩衝液較佳在較低鹽濃度(例如，約0-0.25 M鹽)下進行之低pH值疏水性相互作用層析法。

G.醫藥調配物

本發明之抗體-藥物共軛物(ADC)可藉由適合於待治療病狀之任何途徑來投與。ADC通常將以非經腸方式投與，亦即輸注、皮下、肌肉內、靜脈內、皮內、鞘內及硬膜外投與。

為了治療此等癌症，在一實施例中，經由靜脈內輸注投與抗體-藥物共軛物。經由輸注投與之劑量在每劑約1 μg/m^{2}至約10,000 μg/m^{2}之範圍內，一般為每週一劑，總共為一劑、兩劑、三劑或四劑。或者，劑量範圍為約1 μg/m^{2}至約1000 μg/m^2、約1 μg/m^{2}至約800 μg/m^2、約1 μg/m^{2}至約600 μg/m^2、約1 μg/m^{2}至約400 μg/m^2、約10 μg/m^{2}至約500 μg/m^2、約10 μg/m^{2}至約300 μg/m^2、約10 μg/m^{2}至約200 μg/m^{2}及約1 μg/m^{2}至約200 μg/m^2。劑量可每天投與一次，每週投與一次，每週投與多次但少於每天一次，每月投與多次但少於每天一次，

每月投與多次但少於每週一次，每月投與一次或間歇性投與，以減輕或緩和疾病症狀。可以所揭示之時間間隔中之任一者持續投藥，直至所治療之淋巴瘤、白血病之腫瘤或症狀得到緩解。可在達成症狀緩解或減輕後繼續投藥，其中藉由該繼續投藥延長該緩解或減輕。

本發明亦提供一種減緩自體免疫疾病之方法，其包含向罹患該自體免疫疾病之患者投與治療有效量之前述實施例中之任一者的人類化MA79b抗體-藥物共軛物。在較佳實施例中，經靜脈內或經皮下投與該抗體。以在每劑約1 μg/m^{2}至約100 μg/m^{2}之範圍內的劑量經靜脈內投與該抗體-藥物共軛物，且在一特定實施例中該劑量為1 μg/m^{2}至約500 μg/m^2。劑量可每天投與一次，每週投與一次，每週投與多次但少於每天一次，每月投與多次但少於每天一次，每月投與多次但少於每週一次，每月投與一次或間歇性投與，以減輕或緩和疾病症狀。可以所揭示之時間間隔中之任一者持續投藥，直至所治療之自體免疫疾病之症狀得到減輕或減緩。可在達成症狀之減輕或減緩後繼續投藥，其中藉由該繼續投藥延長該減緩或減輕。

本發明亦提供一種治療B細胞病症之方法，其包含向罹患諸如B細胞增生性病症(包括(但不限於)淋巴瘤及白血病)之B細胞病症或自體免疫疾病之患者投與治療有效量之前述實施例中之任一者的人類化MA79b抗體，該抗體未與細胞毒性分子或可偵測分子共軛。抗體通常將以約1 μg/m^{2}至約1000 μg/m^{2}之劑量範圍投與。

在一態樣中，本發明進一步提供醫藥調配物，其包含至少一種本發明之抗-CD79b抗體及/或至少一種其免疫共軛物及/或至少一種本發明之抗-CD79b抗體-藥物共軛物。在一些實施例中，醫藥調配物包含(1)本發明之抗體及/或其免疫共軛物；及(2)醫藥學上可接受之載劑。在一些實施例中，醫藥調配物包含(1)本發明之抗體及/或其免疫共軛物；及(視情況)(2)至少一種其他治療劑。其他治療劑包括(但不

限於)下文所述之彼等者。ADC通常將以非經腸方式投與，亦即輸注、皮下、肌肉內、靜脈內、皮內、鞘內及硬膜外投與。

根據本發明所使用之包含抗-CD79b抗體或CD79b免疫共軛物之治療性調配物係藉由以凍乾調配物或水溶液之形式將具有所需純度之抗體或免疫共軛物與可選醫藥學上可接受之載劑、賦形劑或穩定劑(**Remington's Pharmaceutical Sciences**第16版，Osol, A.編(1980))混合來製備以供儲存。可接受之載劑、賦形劑或穩定劑在所用之劑量及濃度下對接受者係無毒的，且包括緩衝劑，諸如乙酸鹽、Tris、磷酸鹽、檸檬酸鹽及其他有機酸；抗氧化劑，包括抗壞血酸及甲硫胺酸；防腐劑(諸如氯化十八烷基二甲基苄基銨；氯化六烴季銨；氯苄烷銨、苄索氯銨；苯酚、丁醇或苄醇；對羥基苯甲酸烷基酯，諸如對羥基苯甲酸甲酯或對羥基苯甲酸丙酯；兒茶酚；間苯二酚；環己醇；3-戊醇；及間甲酚)；低分子量(少於約10個殘基)多肽；蛋白質，諸如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，諸如聚乙烯吡咯啶酮；胺基酸，諸如甘胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺酸、組胺酸、精胺酸或離胺酸；單醣、雙醣及其他碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合劑，諸如EDTA；張力劑，諸如海藻糖及氯化鈉；糖，諸如蔗糖、甘露糖醇、海藻糖或山梨糖醇；界面活性劑，諸如聚山梨醇酯；鹽形成抗衡離子，諸如鈉；金屬錯合物(例如，Zn-蛋白質錯合物)；及/或非離子界面活性劑，諸如TWEEN®、PLURONICS®或聚乙二醇(PEG)。待用於活體內投藥之醫藥調配物一般無菌。此易於藉由經由無菌過濾膜過濾來實現。

本文中之調配物亦可含有一種以上為所治療之特定適應症所必需之活性化合物，較佳為彼此無不利影響之具有互補活性之彼等者。舉例而言，除了抗-CD79b抗體以外，可希望一種調配物中包括另一種抗體，例如結合CD79b多肽上之不同抗原決定基之第二抗-CD79b抗

體，或諸如影響特定癌瘤生長之生長因子之一些其他靶的抗體。或者或另外，該組合物可進一步包含化學治療劑、細胞毒性劑、細胞因子、生長抑制劑、抗激素藥劑及/或心臟保護劑。該等分子適當地係以對於所欲目的有效之量組合存在。

活性成份亦可包埋於例如藉由凝聚技術或藉由界面聚合所製備之微膠囊(分別例如為羥甲基纖維素或明膠-微膠囊及聚-(甲基丙烯酸甲酯)微膠囊)中；包埋於膠態藥物傳遞系統(例如，脂質體、白蛋白微球體、微乳液、奈米粒子及奈米膠囊)中；或包埋於巨乳液中。該等技術係揭示於**Remington's Pharmaceutical Sciences**，第16版，Osol, A.編(1980)中。

可製備持續釋放製劑。持續釋放製劑之合適實例包括含有抗體之固體疏水性聚合物的半透性基質，該等基質呈成形物品之形式，例如薄膜或微膠囊。持續釋放基質之實例包括聚酯、水凝膠(例如，聚(2-羥乙基-甲基丙烯酸酯)或聚(乙烯醇))、聚丙交酯(美國專利第3,773,919號)、L-麩胺酸與γ乙基-L-麩胺酸鹽之共聚物、不可降解之乙烯-乙酸乙烯酯、可降解之乳酸-乙醇酸共聚物(諸如LUPRON DEPOT®(由乳酸-乙醇酸共聚物及醋酸亮丙瑞林(leuprolide acetate)組成之可注射微球體))及聚-D-(-)-3-羥基丁酸。雖然諸如乙烯-乙酸乙烯酯及乳酸-乙醇酸之聚合物使分子能夠釋放歷時超過100天，但某些水凝膠釋放蛋白質歷時較短時間。當囊封之免疫球蛋白在身體內保持很長時間時，其可能由於暴露於37℃下之水分而變性或聚集，從而導致生物活性之損失及免疫原性可能之變化。視所涉及之機制而定，可設計合理策略以求穩定。舉例而言，若發現聚集機制為經由硫基-二硫鍵互換形成分子間S-S鍵，則可藉由修飾硫氫基殘基、自酸性溶液凍乾、控制水分含量、使用適當添加劑且研製特定聚合物基質組合物來達成穩定化。

可以任何適合於傳遞至靶細胞/組織之形式調配抗體。舉例而言，可將抗體調配為免疫脂質體。"脂質體"為由適用於將藥物傳遞至哺乳動物之各種類型之脂質、磷脂及/或界面活性劑構成的小泡。脂質體之組分通常排列成雙層構造，類似於生物膜之脂質排列。含有抗體之脂質體係藉由此項技術中已知之方法來製備，諸如Epstein等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:3688 (1985)；Hwang等人，*Proc. Natl Acad. Sci. USA* 77:4030 (1980)；美國專利第4,485,045號及第4,544,545號；及1997年10月23日公開之WO97/38731中所述之方法。循環時間提高之脂質體係揭示於美國專利第5,013,556號中。

尤其適用之脂質體可藉由用包含磷脂醯膽鹼、膽固醇及PEG衍生之磷脂醯乙醇胺(PEG-PE)之脂質組合物的逆相蒸發法來產生。經由限定孔徑之過濾器擠出脂質體以得到具有所需直徑之脂質體。本發明之抗體之Fab'片段可經由二硫鍵互換反應而與脂質體共軛(如Martin等人，*J. Biol. Chem.* 257:286-288 (1982)中所述)。脂質體內視情況含有化學治療劑。參見Gabizon等人，*J. National Cancer Inst.* 81(19):1484 (1989)。

待用於活體內投藥之調配物必須為無菌的。此易於藉由經由無菌過濾膜過濾來實現。

H.用抗-CD79b抗體治療

為測定癌症中之CD79b表現，可利用各種偵測檢定。在一實施例中，CD79b多肽過表現可藉由免疫組織化學法(IHC)來分析。可使來自腫瘤活組織檢查之石蠟包埋組織切片經受IHC檢定且符合如下CD79b蛋白質染色強度標準：

分數0-未觀察到染色或在不到10%之腫瘤細胞中觀察到膜染色。

分數1+-在超過10%之腫瘤細胞中偵測到微弱/勉強可看得出之膜染色。該等細胞僅在其膜之部分中被染色。

分數2+-在超過10%之腫瘤細胞中觀察到弱至中等的全膜染色。

分數3+-在超過10%之腫瘤細胞中觀察到中等至強的全膜染色。

對於CD79b多肽表現具有0或1+分數之彼等腫瘤可經表徵為不過度表現CD79b，而具有2+或3+分數之彼等腫瘤可經表徵為過度表現CD79b。

或者或另外，可對福爾馬林(formalin)固定、石蠟包埋之腫瘤組織進行諸如INFORM®(由Ventana, Arizona出售)或PATHVISION®(Vysis, Illinois)之FISH檢定以測定腫瘤中CD79b過表現之程度(若存在)。

CD79b過表現或擴增可使用活體內偵測檢定來評估，例如藉由投與結合待偵測之分子且用可偵測標記(例如，放射性同位素或螢光標記)標記之分子(諸如抗體)且外部地掃描患者來定位該標記而進行。

如上文所述，本發明之抗-CD79b抗體具有各種非治療性應用。本發明之抗-CD79b抗體可適用於表現CD79b多肽之癌症之分級(例如在放射成像中)。該等抗體亦適用於CD79b多肽自細胞之純化或免疫沈澱，適用於CD79b多肽之活體外偵測及量化(例如ELISA或西方墨點法中)，可作為其他細胞純化之步驟用於自混合細胞群體中殺死表現CD79b之細胞及自該群體消除表現CD79b之細胞。

目前，視癌症之階段而定，癌症治療包含下列療法中之一者或組合：手術移除癌組織、放射療法及化學療法。抗-CD79b抗體療法可尤其為不能良好地耐受化學療法之毒性與副作用之老年患者及放射療法具有有限有用性之轉移性疾病所需的。靶向腫瘤之本發明之抗-CD79b抗體適用於在最初診斷疾病後或在復發期間減緩表現CD79b之癌症。對於治療性應用而言，抗-CD79b抗體可單獨使用，或以與(例如)激素、抗血管生成藥或放射性標記化合物或與手術、冷凍療法及/或放射療法之組合療法使用。抗-CD79b抗體治療可結合其他形式之

習知療法，與習知療法一起連續投與、在習知療法之前或在習知療法之後投與。諸如TAXOTERE®(多烯紫杉醇)、TAXOL®(太平洋紫杉醇(palictaxel))、雌莫司汀及米托蒽醌之化學治療藥物用於治療癌症，尤其低危(good risk)患者之癌症。在本發明用於治療或減緩癌症之本發明方法中，可結合用前述化學治療劑中之一或多者治療來投與癌症患者抗-CD79b抗體。尤其，涵蓋與太平洋紫杉醇及經改質之衍生物之組合療法(參見例如EP0600517)。抗-CD79b抗體將與治療有效劑量之化學治療劑一起投與。在另一實施例中，結合化學療法投與抗-CD79b抗體以增強化學治療劑(例如，太平洋紫杉醇)之活性及功效。醫師桌上參考手冊(Physicians' Desk Reference，PDR)揭示已用於治療各種癌症之此等藥劑之劑量。治療上有效之此等上述化學治療藥物之給藥方案及劑量將視所治療之特定癌症、疾病程度及熟習此項技術之醫師所熟悉之其他因素而定且可由醫師確定。

在一特定實施例中，向患者投與包含與細胞毒性劑共軛之抗-CD79b抗體之共軛物。較佳地，結合於CD79b蛋白質之免疫共軛物被細胞內在化，從而導致免疫共軛物殺死其所結合之癌細胞之治療性功效得到增強。在一較佳實施例中，細胞毒性劑靶向或干擾癌細胞中之核酸。該等細胞毒性劑之實例在上文已有描述且包括美登素類、卡奇黴素、核糖核酸酶及DNA核酸內切酶。

根據已知方法，諸如靜脈內投藥(例如以大丸劑形式或藉由經一段時間連續輸注)、以肌肉內、腹膜內、腦脊髓內、皮下、關節內、滑膜內、鞘內、口服、局部或吸入途徑，向人類患者投與抗-CD79b抗體或其毒素共軛物。靜脈內或皮下投與抗體為較佳。

其他治療性方案可與抗-CD79b抗體之投與組合。組合投藥包括使用獨立調配物或單一醫藥調配物共投藥及以任一順序連續投藥，其中較佳存在兩種(或所有)活性劑同時發揮其生物活性之時段。較佳

地，該組合療法產生協同治療效應。

亦可希望將抗-CD79b抗體之投與與針對另一與特定癌症相關之腫瘤抗原之抗體的投與相組合。

在另一實施例中，本發明之治療性治療方法包含抗-CD79b抗體與一或多種化學治療劑或生長抑制劑之組合投與，包括不同化學治療劑或亦抑制腫瘤生長之其他細胞毒性劑或其他治療劑之混合物的共投與。化學治療劑包括雌莫司汀磷酸鹽、潑尼莫司汀、順鉑、5-氟尿嘧啶、美法侖、環磷醯胺、羥基脲及羥基脲紫杉烷類(hydroxyureataxanes)(諸如太平洋紫杉醇及多烯紫杉醇)及/或蒽環黴素抗生素。該等化學治療劑之製劑及給藥進度可根據製造商之說明或如由熟練從業者憑經驗所判定來使用。該等化學療法之製劑及給藥進度亦描述於Chemotherapy Service Ed., M.C. Perry, Williams & Wilkins, Baltimore, MD (1992)中。可將抗體與如下抗-激素化合物組合；例如，抗-雌激素化合物，諸如他莫昔芬；抗-孕酮，諸如奧那司酮(參見EP 616 812)；或抗-雄激素，諸如氟他胺，該等分子之劑量為已知的。在待治療之癌症為雄激素非依賴性癌症的情況下，患者可能先前已經受抗-雄激素療法且在癌症變成雄激素非依賴性後可向患者投與抗-CD79b抗體(及(視情況)如本文所述之其他藥劑)。

有時，亦可能有益的是向患者共投與心臟保護劑(以預防或減少與療法相關之心肌功能不全)或一或多種細胞因子。除了上述治療性方案以外，患者可在抗體療法之前、同時或之後經受癌細胞之手術移除及/或放射療法(例如外射束照射或用諸如抗體之放射性標記藥劑之療法)。適用於上述共投與之藥劑中之任一者的劑量為目前所使用之彼等劑量且可能由於藥劑與抗-CD79b抗體之組合作用(協同作用)而降低。

本發明之抗體組合物將以與良好醫學實踐一致之方式來調配、

給藥及投與。就此而言，考慮因素包括所治療之特定病症、所治療之特定哺乳動物、個別患者之臨床情況、病症病因、藥劑傳遞部位、投藥方法、投藥進度安排及開業醫師已知之其他因素。抗體無需與一或多種目前用於預防或治療所述病症之藥劑一起調配，但視情況可與後者一起調配。該等其他藥劑之有效量係視存在於調配物中之本發明抗體的量、病症或治療之類型及上述其他因素而定。此等者一般係以與上文所用相同之劑量及投藥途徑來使用或以約為迄今所用之劑量之1%至99%的劑量來使用。

對於預防或治療疾病而言，投藥之劑量及模式將由醫師根據已知標準來選擇。抗體之適當劑量將視如上文所定義之待治療之疾病類型、疾病之嚴重性及病因、抗體係出於預防性目的抑或治療性目的而投與、先前療法、患者之臨床病史及對抗體之反應以及主治醫師之判斷而定。適當地向患者一次性地或經一系列治療投與抗體。較佳地，藉由靜脈內輸注或藉由皮下注射投與抗體。視疾病之類型及嚴重性而定，無論(例如)藉由一或多次獨立投藥抑或藉由連續輸注，約1微克/公斤體重至約50毫克/公斤體重(例如，約0.1-15毫克/公斤/劑量)之抗體可為向患者投與之初始候選劑量。給藥方案可包含投與約4 mg/kg之初始負荷劑量，接著投與約2 mg/kg之抗-CD79b抗體之每週維持劑量。然而，可使用其他給藥方案。典型日劑量可在約1 μg/kg至100 mg/kg或更高劑量之範圍內變化，此視上文所提及之因素而定。對於經數天或更長時間之重複投藥而言，視病狀而定，持續治療直至對疾病症狀之所需抑制出現為止。此療法之進程可容易地藉由習知方法及檢定且基於醫師或其他熟習此項技術者已知之標準來監測。

除了向患者投與抗體蛋白以外，本發明之申請案涵蓋藉由基因療法投與抗體。編碼抗體之核酸之所述投與係由表述"投與治療有效量之抗體"所涵蓋。參見例如1996年3月14日公開之WO 96/07321，其

係關於使用基因療法來產生細胞內抗體。

存在兩種使核酸(視情況含於載體中)進入患者細胞內之主要途徑：活體內及離體。對於活體內傳遞而言，將核酸直接注入患者體內，通常注射在需要抗體之部位處。對於離體治療而言，移除患者之細胞，將核酸引入此等經分離之細胞內且直接或例如囊封於植入患者體內之多孔膜中向患者投與經改變之細胞(參見例如美國專利第4,892,538號及第5,283,187號)。存在各種可用於將核酸引入活細胞內之技術。該等技術視是否將核酸活體外轉移至培養細胞中或活體內轉移至所欲宿主之細胞中而變化。適合於將核酸活體外轉移至哺乳動物細胞中之技術包括使用脂質體、電穿孔、顯微注射、細胞融合、DEAE-葡聚糖、磷酸鈣沈澱方法等。一種常用於離體傳遞基因之載體為反轉錄病毒載體。

目前較佳之活體內核酸轉移技術包括用病毒載體(諸如腺病毒、單純疱疹I病毒或腺相關病毒)及基於脂質之系統(適用於脂質介導之基因轉移之脂質例如為DOTMA、DOPE及DC-Chol)轉染。關於目前已知之基因標記及基因治療方案之綜述，參見Anderson等人，**Science** 256:808-813 (1992)。亦參見WO 93/25673及其中所引用之參考文獻。

本發明之抗-CD79b抗體可呈由本文中"抗體"之定義所涵蓋之不同形式。因此，該等抗體包括全長或完整抗體、抗體片段、天然序列抗體或胺基酸變異體、人類化、嵌合或融合抗體、免疫共軛物及其功能片段。在融合抗體中，抗體序列與異源多肽序列融合。該等抗體可在Fc區中被修飾以提供所需效應功能。如本文中關於適當Fc區之章節中更詳細地論述，結合於細胞表面上之裸抗體可(例如)經由抗體依賴性細胞細胞毒性(ADCC)或藉由以補體依賴性細胞毒性募集補體或一些其他機制誘導細胞毒性。或者，當希望消除或降低效應功能以便將副作用或治療併發症減至最少時，可使用某些其他Fc區。

在一實施例中，抗體競爭結合於或大體上結合於與本發明之抗體相同的抗原決定基。亦涵蓋具有本發明之抗-CD79b抗體之生物學特徵的抗體，該等生物學特徵特別包括活體內腫瘤靶向及任何細胞增生抑制或細胞毒性特徵。

本文中詳細描述製造上述抗體之方法。

本發明之抗-CD79b抗體適用於治療哺乳動物之表現CD79b之癌症或減緩該癌症之一或多種症狀。此類癌症包括(但不限於)造血癌或血液相關癌症，諸如淋巴瘤、白血病、骨髓瘤或淋巴惡性腫瘤，以及脾之癌症及淋巴結之癌症。該等B細胞相關癌症之更特定實例包括例如高度、中度及低度淋巴瘤(包括B細胞淋巴瘤，諸如黏膜相關淋巴組織B細胞淋巴瘤及非霍奇金氏淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤、小淋巴細胞性淋巴瘤、邊緣區淋巴瘤、瀰漫性大細胞淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤及霍奇金氏淋巴瘤及T細胞淋巴瘤)及白血病(包括繼發性白血病、慢性淋巴細胞性白血病(諸如B細胞白血病(CD5+ B淋巴細胞))、骨髓性白血病(諸如急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病)、淋巴細胞性白血病(諸如急性淋巴母細胞性白血病)及脊髓發育不良)以及其他血液學癌症及/或B細胞或T細胞相關癌症。該等癌症涵蓋前述任一者之轉移性癌症。抗體能夠結合於哺乳動物體內表現CD79b多肽之癌細胞之至少一部分。在一較佳實施例中，抗體可在結合於細胞上之CD79b多肽後在活體外或活體內有效地破壞或殺死表現CD79b之腫瘤細胞或抑制該等腫瘤細胞之生長。此類抗體包括裸抗-CD79b抗體(未與任何藥劑共軛)。具有細胞毒性或細胞生長抑制特性之裸抗體可進一步用細胞毒性劑裝備以使其在腫瘤細胞破壞方面甚至更有效。可藉由(例如)使抗體與細胞毒性劑共軛以形成如本文所述之免疫共軛物來賦予抗-CD79b抗體細胞毒性特性。該細胞毒性劑或生長抑制劑較佳為小分子。諸如卡奇黴素或美登素類及其類似物或衍生物之毒素為

較佳。

本發明提供一種包含本發明之抗-CD79b抗體及載劑之組合物。出於治療癌症之目的，可向需要該治療之患者投與組合物，其中該組合物可包含一或多種以免疫共軛物形式或以裸抗體形式存在之抗-CD79b抗體。在另一實施例中，該等組合物可包含此等抗體與諸如細胞毒性劑或生長抑制劑(包括化學治療劑)之其他治療劑的組合。本發明亦提供包含本發明之抗-CD79b抗體及載劑之調配物。在一實施例中，該調配物為包含醫藥學上可接受之載劑的治療性調配物。

本發明之另一態樣為經分離之編碼抗-CD79b抗體之核酸。其涵蓋編碼H與L鏈及尤其高變區殘基之核酸、編碼天然序列抗體以及抗體之變異體、修飾及人類化形式之鏈。

本發明亦提供適用於治療哺乳動物之表現CD79b多肽之癌症或減緩該癌症之一或多種症狀的方法，其包含向該哺乳動物投與治療有效量之抗-CD79b抗體。該抗體治療性組合物可短期或長期進行投與，或如醫師所指示間歇投與。亦提供抑制表現CD79b多肽之細胞之生長及殺死表現CD79b多肽之細胞的方法。

本發明亦提供包含至少一種抗-CD79b抗體之套組及製品。含有抗-CD79b抗體之套組可(例如)用於CD79b細胞殺死檢定，用於CD79b多肽自細胞之純化或免疫沈澱。舉例而言，對於CD79b之分離及純化而言，套組可含有與珠粒(例如瓊脂糖凝膠珠粒)偶合之抗-CD79b抗體。可提供含有用於活體外偵測及量化CD79b(例如ELISA或西方墨點法中)之抗體之套組。該適用於偵測之抗體可具備諸如螢光或放射性標記之標記。

I.抗體-藥物共軛物治療

預期本發明之抗體-藥物共軛物(ADC)可用於治療各種疾病或病症，舉例而言，該等疾病或病症之特徵為過度表現腫瘤抗原。例示性

病狀或過度增生性病症包括良性或惡性腫瘤；白血病及淋巴惡性腫瘤。其他疾病包括神經元病症、神經膠質病症、星形膠質細胞病症、下丘腦病症、腺體病症、巨噬細胞病症、上皮病症、基質病症、囊胚腔病症、發炎性病症、血管生成病症及免疫病症(包括自體免疫病症)。

在動物模型及基於細胞之檢定中鑑別之ADC化合物可進一步在帶有腫瘤之高等靈長類及人類臨床試驗中進行測試。人類臨床試驗可經設計用以測試本發明之抗-CD79b單株抗體或免疫共軛物在經歷B細胞增生性病症之患者體內的功效，該病症包括(但不限於)淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、侵襲性NHL、復發性侵襲性NHL、復發性惰性NHL、難治性NHL、難治性惰性NHL、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、小淋巴細胞性淋巴瘤、白血病、毛細胞白血病(HCL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)及套細胞淋巴瘤。臨床試驗可經設計用以評估ADC與諸如放射療法及/或化學療法(涉及已知化學治療劑及/或細胞毒性劑)之已知治療性方案之組合的功效。

一般而言，待治療之疾病或病症為過度增生性疾病，諸如B細胞增生性病症及/或B細胞癌症。本文中待治療之癌症之實例包括(但不限於)B細胞增生性病症，其係選自淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、侵襲性NHL、復發性侵襲性NHL、復發性惰性NHL、難治性NHL、難治性惰性NHL、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、小淋巴細胞性淋巴瘤、白血病、毛細胞白血病(HCL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)及套細胞淋巴瘤。

該癌症可包含表現CD79b之細胞，以便使本發明之ADC能夠結合於癌細胞。為測定癌症中之CD79b表現，可使用各種診斷/預後檢定。在一實施例中，可藉由IHC分析CD79b過表現。可使來自腫瘤活組織檢查之石蠟包埋組織切片經受IHC檢定且就染色程度及所檢驗腫

瘤細胞之比例而言符合CD79b蛋白質染色強度標準。

對於預防或治療疾病而言，ADC之適當劑量將視如上文所定義之待治療之疾病類型、疾病之嚴重性及病因、分子係出於預防性目的抑或治療性目的而投與、先前療法、患者之臨床病史及對抗體之反應以及主治醫師之判斷而定。適當地向患者一次性地或經一系列治療投與分子。視疾病之類型及嚴重性而定，無論(例如)藉由一或多次獨立投藥抑或藉由連續輸注，約1 μg/kg至15 mg/kg(例如0.1-20 mg/kg)之分子為向患者投與之初始候選劑量。典型日劑量可在約1 μg/kg至100 mg/kg或更高劑量之範圍內變化，此視上文所提及之因素而定。向患者投與之ADC之例示性劑量在約0.1 mg/kg患者體重至約10 mg/kg患者體重之範圍內。

對於經數天或更長時間之重複投藥而言，視病狀而定，持續治療直至對疾病症狀之所需抑制出現為止。例示性給藥方案包含投與約4 mg/kg之初始負荷劑量，接著投與約2 mg/kg之抗-ErbB2抗體之每週維持劑量。可使用其他給藥方案。此療法之進程易於藉由習知技術及檢定來監測。

J.組合療法

本發明之抗體-藥物共軛物(ADC)可與具有抗癌特性之第二化合物一起組合於醫藥組合調配物中，或以組合療法形式組合於給藥方案中。醫藥組合調配物或給藥方案之第二化合物對組合中之ADC較佳具有互補活性，以使其彼此無不利影響。

該第二化合物可為化學治療劑、細胞毒性劑、細胞因子、生長抑制劑、抗激素藥劑及/或心臟保護劑。該等分子適當地係以對於所欲目的有效之量組合存在。含有本發明之ADC之醫藥組合物亦可具有治療有效量之化學治療劑，諸如微管蛋白形成抑制劑、拓撲異構酶抑制劑或DNA結合劑。

在一態樣中，第一化合物為本發明之抗-CD79b ADC且第二化合物為抗-CD20抗體(其為裸抗體或ADC)。在一實施例中，第二化合物為抗-CD20抗體利妥昔單抗(Rituxan®)或2H7(Genentech, Inc., South San Francisco, CA)。另一種適用於與本發明之抗-CD79b ADC組合之免疫療法的抗體包括(但不限於)抗-VEGF(例如，Avastin®)。

其他治療性方案可與根據本發明所鑑別之抗癌劑之投與組合，該等方案包括(但不限於)放射療法及/或骨髓及周邊血液移植，及/或細胞毒性劑、化學治療劑或生長抑制劑。在該等實施例之一者中，化學治療劑為諸如環磷醯胺、羥基柔紅黴素、阿黴素、多柔比星(doxorubincin)、長春新鹼(Oncovin™)、潑尼龍、CHOP、CVP或COP之藥劑或藥劑之組合，或諸如抗-CD20(例如Rituxan®)或抗-VEGF(例如Avastin®)之免疫治療劑。

組合療法可以同時或依序方案投與。當依序投與時，該組合可以兩次或兩次以上投藥來投與。組合投藥包括使用獨立調配物或單一醫藥調配物共投藥及以任一順序連續投藥，其中較佳存在兩種(或所有)活性劑同時發揮其生物活性之時段。

在一實施例中，用ADC治療涉及本文中所鑑別之抗癌劑與一或多種化學治療劑或生長抑制劑之組合投與，包括不同化學治療劑之混合物之共投與。化學治療劑包括紫杉烷(諸如太平洋紫杉醇及多烯紫杉醇)及/或蒽環黴素抗生素。該等化學治療劑之製劑及給藥進度可根據製造商之說明或如由熟練從業者憑經驗所判定來使用。該等化學療法之製劑及給藥進度亦描述於"Chemotherapy Service"，(1992) Ed., M.C. Perry, Williams & Wilkins, Baltimore, Md中。

適用於上述共投與之藥劑中之任一者的劑量為目前所使用之彼等劑量且可能由於新鑑別之藥劑及其他化學治療劑或治療之組合作用(協同作用)而降低。

組合療法可提供"協同作用"且證明為"協同的"，亦即活性成份一起使用時所達成之效應大於由單獨使用該等化合物所引起之效應的總和。協同效應可在活性成份為下列情況時獲得：(1)將其共調配且同時以組合之單位劑量調配物投與或傳遞；(2)將其以獨立調配物交替或並行傳遞；或(3)利用一些其他方案。當以交替療法傳遞時，協同效應可在(例如)藉由以獨立注射器進行不同注射來依序投與或傳遞化合物時獲得。一般而言，在交替療法期間，依序(亦即連續)投與有效劑量之各活性成份，而在組合療法中，同時投與有效劑量之兩種或兩種以上活性成份。

K.製品及套組

本發明之另一實施例為一種含有適用於治療、預防及/或診斷表現CD79b之癌症之物質的製品。該製品包含一容器及一在該容器上或與該容器相聯之標籤或包裝插頁。合適之容器包括(例如)瓶子、小瓶、注射器等。該等容器可由諸如玻璃或塑料之各種材料形成。容器容納可有效治療、預防及/或診斷癌症病狀之組合物且可具有一無菌進入孔(例如，容器可為具有可由皮下注射針刺穿之塞子的靜脈輸液袋或小瓶)。組合物中之至少一種活性劑為本發明之抗-CD79b抗體。標籤或包裝插頁指示組合物用於治療癌症。標籤或包裝插頁將進一步包含關於向癌症患者投與抗體組合物之說明書。另外，該製品可進一步包含一第二容器，其包含醫藥學上可接受之緩衝劑，諸如抑菌性注射用水(BWFI)、磷酸鹽緩衝生理食鹽水、林格氏溶液(Ringer's solution)及右旋糖溶液。其可進一步包括自商業及使用者立場需要之其他物質，包括其他緩衝劑、稀釋劑、過濾器、針及注射器。

亦提供適用於各種目的之套組，例如適用於表現CD79b之細胞殺死檢定，適用於CD79b多肽自細胞之純化或免疫沈澱。對於CD79b多肽之分離及純化而言，套組可含有與珠粒(例如瓊脂糖凝膠珠粒)偶合

之抗-CD79b抗體。可提供含有用於活體外偵測及量化CD79b多肽(例如ELISA或西方墨點法中)之抗體之套組。如同製品一樣，套組包含一容器及一在該容器上或與該容器相聯之標籤或包裝插頁。該容器容納包含至少一種本發明之抗-CD79b抗體之組合物。可包括含有(例如)稀釋劑及緩衝劑、對照抗體之其他容器。標籤或包裝插頁可提供關於組合物之描述以及關於所欲活體外或偵測用途之說明。

L. **CD79b多肽之用途**

本發明涵蓋篩選化合物以鑑別模擬CD79b多肽(促效劑)或阻止CD79b多肽之效應(拮抗劑)之彼等者的方法。設計用於拮抗劑藥物候選者之篩選檢定以鑑別結合由本文中所鑑別之基因編碼之CD79b多肽或與該多肽複合或者干擾所編碼之多肽與其他細胞蛋白質之相互作用(包括例如抑制CD79b多肽自細胞之表現)的化合物。該等篩選檢定將包括能執行化學庫之高產量篩選之檢定，從而使其尤其適合於鑑別小分子藥物候選者。

該等檢定可以各種形式執行，包括蛋白質-蛋白質結合檢定、生物化學篩選檢定、免疫檢定及基於細胞之檢定，此在此項技術中已有充分描繪。

關於拮抗劑之所有檢定的共同之處在於其需要使藥物候選者與由本文中所鑑別之核酸編碼之CD79b多肽在足以可使此等兩種組份相互作用之條件及時間下接觸。

在結合檢定中，相互作用為結合且所形成之複合物可得以分離或在反應混合物中得以偵測。在一特定實施例中，藉由共價或非共價連接使由本文中所鑑別之基因編碼之CD79b多肽或藥物候選者固定於固相上，例如微量滴定板上。非共價連接一般係藉由用CD79b多肽之溶液塗覆固體表面且進行乾燥來實現。或者，對待固定之CD79b多肽具特異性之經固定的抗體(例如單株抗體)可用於使其錨定於固體表面

上。藉由將可用可偵測標記作標記之未經固定之組份添加至經固定之組份(例如含有經錨定組份之經塗覆表面)中來執行檢定。當反應完成時，例如藉由洗滌移除未反應之組份，且偵測錨定於固體表面上之複合物。當最初未經固定之組份帶有可偵測標記時，對固定於表面上之標記之偵測指示存在複合作用。當最初未經固定之組份並未帶有標記時，可例如藉由使用特異性結合經固定之複合物的經標記之抗體來偵測複合作用。

若候選化合物與由本文中所鑑別之基因編碼之特定CD79b多肽相互作用，但並不結合於該特定CD79b多肽，則其與彼多肽之相互作用可藉由熟知用於偵測蛋白質-蛋白質相互作用之方法來檢定。該等檢定包括傳統方法，諸如交聯、共免疫沈澱及經由梯度或層析管柱之共純化。另外，蛋白質-蛋白質相互作用可藉由使用由Fields及同事所述之基於酵母之遺傳系統來監測(Fields及Song, **Nature (London)**, 340:245-246 (1989)；Chien等人，**Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 88:9578-9582 (1991))，如由Chevray及Nathans, **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 89: 5789-5793 (1991)所揭示。諸如酵母GAL4之許多轉錄活化因子由兩個物理離散模組化域組成，一個充當DNA結合域，另一個充當轉錄活化域。上述公開案中所述之酵母表現系統(一般稱為 "雙雜合系統")利用此特性，且利用兩種雜合蛋白質，其中一者中靶蛋白與GAL4之DNA結合域融合，且其中另一者中候選活化蛋白與活化域融合。GAL1-*lac*Z報導體基因在GAL4活化啟動子控制下之表現視經由蛋白質-蛋白質相互作用所達成之GAL4活性的重建而定。用β-半乳糖苷酶之產色受質偵測含有相互作用之多肽之群落。一種使用雙雜合技術鑑別兩種特異性蛋白質之間的蛋白質-蛋白質相互作用之完整套組(MATCHMAKER™)可購自Clontech。此系統亦可經擴展以定位特異性蛋白質相互作用中所涉及之蛋白質域以及精確定位對於此等相互作

用至關重要之胺基酸殘基。

干擾編碼本文中所鑑別之CD79b多肽之基因與其他細胞內或細胞外組份的相互作用之化合物可如下進行測試：通常在允許兩種產物相互作用及結合之條件及時間下製備含有基因與細胞內或細胞外組份之產物的反應混合物。為測試候選化合物抑制結合之能力，在測試化合物不存在及在存在之情況下進行反應。另外，可將安慰劑添加至第三反應混合物中，以作為陽性對照組。如上文所述監測存在於混合物中之測試化合物與細胞內或細胞外組份之間的結合(複合物形成)。對照組反應中而非含有測試化合物之反應混合物中複合物之形成指示測試化合物干擾測試化合物與其反應搭配物之相互作用。

為檢定拮抗劑，可將CD79b多肽連同有待針對特定活性加以篩選之化合物添加至細胞中且在CD79b多肽存在下化合物抑制所關注之活性的能力指示化合物為CD79b多肽之拮抗劑。或者，可藉由在對於競爭性抑制檢定適當之條件下將CD79b多肽及潛在拮抗劑與結合膜之CD79b多肽受體或重組受體組合來偵測拮抗劑。可諸如利用放射性對CD79b多肽作標記，以便可使用結合於受體之CD79b多肽分子之數目來測定潛在拮抗劑之有效性。編碼受體之基因可藉由熟習此項技術者已知之許多方法加以鑑別，例如配位體淘選及FACS分選。Coligan等人，**Current Protocols in Immun.**, 1(2): Chapter 5 (1991)。較佳地，利用表現選殖，其中自對CD79b多肽有反應之細胞製備多聚腺嘌呤化RNA且將由此RNA建立之cDNA庫分為多個池並用於轉染COS細胞或對CD79b多肽無反應之其他細胞。使生長於玻璃載片上之經轉染之細胞暴露於經標記之CD79b多肽。CD79b多肽可藉由各種方式加標記，包括碘化作用或包含位點特異性蛋白激酶之識別位點。繼固定及培養後，使載片經受自動射線照相分析。鑑別陽性池且製備亞池並使用互相作用之亞彙集及再篩選過程進行再轉染，最終產生編碼假定受體之

單一純系。

作為受體鑑別之替代性方法，可將經標記之CD79b多肽與細胞膜或表現受體分子之提取製劑光親和連接。藉由PAGE解析交聯物質且使其暴露於X射線膠片。可將含有受體之經標記之複合物切開，分解成肽片段，且使之經受蛋白質微量定序。自微量定序獲得之胺基酸序列將用於設計一組簡併寡核苷酸探針以篩選cDNA庫，從而鑑別編碼假定受體之基因。

在關於拮抗劑之另一檢定中，將表現受體之哺乳動物細胞或膜製劑與經標記之CD79b多肽在候選化合物存在下一起培養。接著可量測化合物增強或阻斷此相互作用之能力。

潛在拮抗劑之更具體的實例包括結合於免疫球蛋白與CD79b多肽之融合物之寡核苷酸，且尤其為包括(但不限於)下列各物之抗體：多株及單株抗體及抗體片段、單鏈抗體、抗-獨特型抗體及該等抗體或片段之嵌合或人類化形式，以及人類抗體及抗體片段。或者，潛在拮抗劑可為密切相關之蛋白質，例如突變形式之CD79b多肽，其識別受體，但不賦予效應，藉此競爭性抑制CD79b多肽之作用。

可以醫藥組合物之形式投與特異性結合本文中所鑑別之CD79b多肽之抗體以及藉由上文所揭示之篩選檢定所鑑別的其他分子以用於治療包括癌症之各種病症。

若CD79b多肽處於細胞內且全部抗體用作抑制劑，則內在化抗體為較佳。然而，脂質體轉染或脂質體亦可用於將抗體或抗體片段傳遞至細胞中。當使用抗體片段時，特異性結合於靶蛋白之結合域之最小抑制性片段為較佳。舉例而言，基於抗體之可變區序列，可設計保留結合靶蛋白序列之能力的肽分子。該等肽可以化學方法合成及/或藉由重組DNA技術產生。參見例如Marasco等人，**Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90**: 7889-7893 (1993)。

本文中之調配物亦可含有一種以上為所治療之特定適應症所必需之活性化合物，較佳為彼此無不利影響之具有互補活性之彼等者。或者或另外，組合物可包含增強其功能之藥劑，諸如細胞毒性劑、細胞因子、化學治療劑或生長抑制劑。該等分子適當地係以對於所欲目的有效之量組合存在。

M.抗體衍生物

本發明之抗體可進一步經修飾以含有此項技術中已知且容易得到之其他非蛋白質性部分。較佳地，該等適用於抗體衍生化之部分為水溶性聚合物。水溶性聚合物之非限制性實例包括(但不限於)聚乙二醇(PEG)、乙二醇/丙二醇之共聚物、羧甲基纖維素、葡聚糖、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯啶酮、聚-1,3-二氧雜環戊烷、聚-1,3,6-三噁烷、乙烯/順丁烯二酸酐共聚物、聚胺基酸(均聚物或無規共聚物)及葡聚糖或聚(N-乙烯吡咯啶酮)聚乙二醇、丙二醇均聚物、聚氧化丙烯/氧化乙烯共聚物、聚氧乙烯化多元醇(例如丙三醇)、聚乙烯醇及其混合物。聚乙二醇丙醛由於其在水中之穩定性而可具有製造優點。該聚合物可具有任何分子量，且可為支鏈或非支鏈聚合物。連接於抗體之聚合物之數目可變化，且若連接一個以上聚合物，則其可為相同或不同分子。一般而言，用於衍生化之聚合物之數目及/或類型可基於包括(但不限於)下列各者之考慮因素來確定：待改良之抗體之特定特性或功能、抗體衍生物是否將在限定條件下用於治療等。

N.篩選方法

本發明之另一實施例係針對一種測定懷疑含有CD79b多肽之樣品中CD79b多肽之存在的方法，其中該方法包含使該樣品暴露於其可結合於CD79b多肽之抗體藥物共軛物及測定其抗體藥物共軛物與樣品中之CD79b多肽之結合，其中該結合之存在指示樣品中存在CD79b多肽。視情況，樣品可含有懷疑表現CD79b多肽之細胞(其可為癌細

胞)。用於該方法之其抗體藥物共軛物可視情況以可偵測方式標記、連接於固體支撐物或其類似情況。

本發明之另一實施例係針對一種診斷哺乳動物體內腫瘤之存在的方法，其中該方法包含(a)使包含自該哺乳動物獲得之組織細胞之測試樣品與其可結合於CD79b多肽之抗體藥物共軛物接觸及(b)偵測其抗體藥物共軛物與該測試樣品中之CD79b多肽之間的複合物之形成，其中複合物之形成指示哺乳動物體內存在腫瘤。視情況，其抗體藥物共軛物係以可偵測方式標記、連接於固體支撐物或其類似情況，且/或組織細胞之測試樣品係自懷疑具有癌性腫瘤之個體獲得。

IV.使用抗-CD79b抗體及免疫共軛物之其他方法

A.診斷方法及偵測方法

在一態樣中，本發明之抗-CD79b抗體及免疫共軛物適用於偵測生物樣品中CD79b之存在。如本文所使用之術語"偵測"涵蓋定量或定性偵測。在某些實施例中，生物樣品包含細胞或組織。在某些實施例中，該等組織包括正常組織及/或以相對於其他組織較高之水平表現CD79b之癌性組織，例如B細胞及/或B細胞相關組織。

在一態樣中，本發明提供一種偵測生物樣品中CD79b之存在之方法。在某些實施例中，該方法包含使該生物樣品與抗-CD79b抗體在容許該抗-CD79b抗體結合於CD79b之條件下接觸，及偵測是否在抗-CD79b抗體與CD79b之間形成複合物。

在一態樣中，本發明提供一種診斷與CD79b表現增加相關之病症的方法。在某些實施例中，該方法包含使測試細胞與抗-CD79b抗體接觸；藉由偵測該抗-CD79b抗體與CD79b之結合來測定該測試細胞對CD79b之表現量(定量地或定性地)；及比較測試細胞對CD79b之表現量與對照細胞(例如，與測試細胞相同之組織來源之正常細胞或以與此類正常細胞相當之量表現CD79b之細胞)對CD79b之表現量，其中與

對照細胞相比測試細胞對CD79b之表現量較高指示存在與CD79b表現增加相關之病症。在某些實施例中，測試細胞係自懷疑患有與CD79b表現增加相關之病症之個體獲得。在某些實施例中，該病症為細胞增生性病症，諸如癌症或腫瘤。

可使用本發明之抗體診斷之例示性細胞增生性病症包括B細胞病症及/或B細胞增生性病症，包括(但不限於)淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、侵襲性NHL、復發性侵襲性NHL、復發性惰性NHL、難治性NHL、難治性惰性NHL、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、小淋巴細胞性淋巴瘤、白血病、毛細胞白血病(HCL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)及套細胞淋巴瘤。

在某些實施例中，諸如上述彼等者之診斷或偵測方法包含偵測抗-CD79b抗體與表現於細胞表面上或獲自表面上表現CD79b之細胞之膜製劑中的CD79b之結合。在某些實施例中，該方法包含使細胞與抗-CD79b抗體在容許該抗-CD79b抗體結合於CD79b之條件下接觸，及偵測是否在抗-CD79b抗體與細胞表面上之CD79b之間形成複合物。一種用於偵測抗-CD79b抗體與表現於細胞表面上之CD79b之結合的例示性檢定為"FACS"檢定。

某些其他方法可用於偵測抗-CD79b抗體與CD79b之結合。該等方法包括(但不限於)此項技術中熟知之抗原結合檢定，諸如西方墨點法、放射免疫檢定、ELISA(酶聯免疫吸附檢定)、"夾心"免疫檢定、免疫沈澱檢定、螢光免疫檢定、蛋白質A免疫檢定及免疫組織化學(IHC)。

在某些實施例中，對抗-CD79b抗體加標記。標記包括(但不限於)可直接偵測之標記或部分(諸如螢光標記、發色標記、電子緻密標記、化學發光標記及放射性標記)，以及可(例如)經由酶促反應或分子間相互作用間接偵測之部分，諸如酶或配位體。例示性標記包括(但

不限於)放射性同位素^{32}P、^{14}C、^{125}I、^{3}H及^{131}I；螢光團，諸如稀土螯合物或螢光素及其衍生物；若丹明及其衍生物；丹醯；傘形酮；螢光素酶，例如螢火蟲螢光素酶及細菌螢光素酶(美國專利第4,737,456號)；螢光素；2,3-二氫酞嗪二酮；辣根過氧化酶(HRP)；鹼性磷酸酶；β-半乳糖苷酶；葡糖澱粉酶；溶菌酶；醣氧化酶，例如葡萄糖氧化酶、半乳糖氧化酶及葡萄糖-6-磷酸脫氫酶；雜環氧化酶，諸如尿酸酶及黃嘌呤氧化酶；與利用過氧化氫氧化染料前驅體之酶偶合者，諸如HRP、乳過氧化物酶或微過氧化物酶；生物素/抗生物素蛋白；自旋標記；噬菌體標記；穩定自由基；及其類似物。

在某些實施例中，將抗-CD79b抗體固定於不溶性基質上。固定需要使抗-CD79b抗體自溶液中保持游離之任何CD79b分離。此習知係藉由在檢定程序前使抗-CD79b抗體不溶(如藉由吸附於水不溶性基質或表面上(Bennich等人，U.S. 3,720,760)或藉由共價偶合(例如使用戊二醛交聯))或藉由在抗-CD79b抗體與CD79b之間形成複合物後使抗-CD79b抗體不溶(例如藉由免疫沈澱)來實現。

關於診斷或偵測之上述實施例中之任一者可使用本發明之免疫共軛物代替抗-CD79b抗體或除抗-CD79b抗體外還使用本發明之免疫共軛物來進行。

B.治療方法

本發明之抗體或免疫共軛物可(例如)用於活體外、離體及活體內治療方法中。在一態樣中，本發明提供活體內或活體外抑制細胞生長或增生之方法，該方法包含在容許免疫共軛物結合於CD79b之條件下使細胞暴露於抗-CD79b抗體或其免疫共軛物。"抑制細胞生長或增生"意謂使細胞生長或增生減少至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或100%，且包括誘導細胞死亡。在某些實施例中，該細胞為腫瘤細胞。在某些實施例中，該細胞為B細

胞。在某些實施例中，該細胞為異種移植物，例如本文中所例示。

在一態樣中，使用本發明之抗體或免疫共軛物來治療或預防B細胞增生性病症。在某些實施例中，細胞增生性病症與CD79b之表現及/或活性增加相關。舉例而言，在某些實施例中，B細胞增生性病症與B細胞表面上CD79b之表現增加相關。在某些實施例中，B細胞增生性病症為腫瘤或癌症。待用本發明之抗體或免疫共軛物治療之B細胞增生性病症的實例包括(但不限於)淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、侵襲性NHL、復發性侵襲性NHL、復發性惰性NHL、難治性NHL、難治性惰性NHL、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、小淋巴細胞性淋巴瘤、白血病、毛細胞白血病(HCL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)及套細胞淋巴瘤。

在一態樣中，本發明提供治療B細胞增生性病症之方法，其包含向個體投與有效量之抗-CD79b抗體或其免疫共軛物。在某些實施例中，一種治療B細胞增生性病症之方法包含向個體投與有效量之醫藥調配物，該醫藥調配物包含抗-CD79b抗體或抗-CD79b免疫共軛物及(視情況)至少一種其他治療劑，諸如下文所提供之彼等者。在某些實施例中，一種治療細胞增生性病症之方法包含向個體投與有效量之醫藥調配物，該醫藥調配物包含1)包含抗-CD79b抗體及細胞毒性劑之免疫共軛物；及(視情況)2)至少一種其他治療劑，諸如下文所提供之彼等者。

在一態樣中，本發明之抗體或免疫共軛物中之至少一些可結合來自除人類外之物種之CD79b。因此，本發明之抗體或免疫共軛物可用於結合(例如)含有CD79b之細胞培養物、人類或具有與本發明之抗體或免疫共軛物交叉反應之CD79b之其他哺乳動物(例如黑猩猩、狒狒、狨猴、獼猴及恆河猴、豬或小鼠)中的CD79b。在一實施例中，抗-CD79b抗體或免疫共軛物可用於藉由使抗體或免疫共軛物與CD79b

接觸以形成抗體或免疫共軛物-抗原複合物以便使免疫共軛物之共軛細胞毒素達到細胞內部而靶向B細胞上之CD79b。在一實施例中，該CD79b為人類CD79b。

在一實施例中，抗-CD79b抗體或免疫共軛物可用於用以結合罹患與CD79b表現及/或活性增加相關之病症之個體的CD79b之方法中，該方法包含向該個體投與抗體或免疫共軛物以便使個體之CD79b被結合。在一實施例中，使結合之抗體或免疫共軛物內在化至表現CD79b之B細胞中。在一實施例中，該CD79b為人類CD79b，且該個體為人類個體。或者，個體可為表現抗-CD79b抗體所結合之CD79b之哺乳動物。此外，個體可為已引入CD79b(例如藉由CD79b之投與或藉由編碼CD79b之轉殖基因之表現來達成)之哺乳動物。

可向人類投與抗-CD79b抗體或免疫共軛物以用於治療目的。此外，可向表現與抗體交叉反應之CD79b之非人類哺乳動物(例如，靈長類、豬、大鼠或小鼠)投與抗-CD79b抗體或免疫共軛物以用於獸醫目的或作為人類疾病之動物模型。關於後者，該等動物模型可適用於評估本發明之抗體或免疫共軛物之治療功效(例如，測試投藥劑量及投藥時程)。

本發明之抗體或免疫共軛物可單獨地加以使用或與療法中之其他組合物組合使用。舉例而言，本發明之抗體或免疫共軛物可與至少一種其他治療劑及/或佐劑共投與。在某些實施例中，另一治療劑為細胞毒性劑、化學治療劑或生長抑制劑。在該等實施例之一者中，化學治療劑為諸如環磷醯胺、羥基柔紅黴素、阿黴素、多柔比星、長春新鹼(Oncovin™)、潑尼龍、CHOP、CVP或COP之藥劑或藥劑之組合，或諸如抗-CD20(例如Rituxan®)或抗-VEGF(例如Avastin®)之免疫治療劑，其中組合療法適用於治療癌症及/或B細胞病症，諸如B細胞增生性病症，包括淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、侵襲性NHL、

復發性侵襲性NHL、復發性惰性NHL、難治性NHL、難治性惰性NHL、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、小淋巴細胞性淋巴瘤、白血病、毛細胞白血病(HCL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)及套細胞淋巴瘤。

上文所述之該等組合療法涵蓋組合投藥(其中兩種或兩種以上治療劑包括於同一或獨立調配物中)；及獨立投藥，在該情況下，本發明之抗體或免疫共軛物之投與可在另一治療劑及/或佐劑之投與之前、同時及/或之後進行。本發明之抗體或免疫共軛物亦可與放射療法組合使用。

本發明之抗體或免疫共軛物(及任何其他治療劑或佐劑)可藉由任何合適之方式投與，包括非經腸、皮下、腹膜內、肺內及鼻內方式，且若局部治療需要時包括病灶內投藥。非經腸輸注包括肌肉內、靜脈內、動脈內、腹膜內或皮下投藥。另外，適當地藉由脈衝輸注投與抗體或免疫共軛物，尤其遞減抗體或免疫共軛物之劑量。可藉由任何合適之途徑進行給藥，例如以注射方式，諸如靜脈內或皮下注射，此部分視投藥是否為短暫投藥抑或長期投藥而定。

本發明之抗體或免疫共軛物將以與良好醫學實踐一致之方式來調配、給藥及投與。就此而言，考慮因素包括所治療之特定病症、所治療之特定哺乳動物、個別患者之臨床情況、病症病因、藥劑傳遞部位、投藥方法、投藥進度安排及開業醫師已知之其他因素。抗體或免疫共軛物無需與一或多種目前用於預防或治療所述病症之藥劑一起調配，但視情況可與後者一起調配。該等其他藥劑之有效量係視存在於調配物中之抗體或免疫共軛物的量、病症或治療之類型及上述其他因素而定。此等者一般係以與本文所述相同之劑量及投藥途徑來使用或以約為本文所述之劑量之1%至99%的劑量來使用，或以根據經驗/臨床確定為適當之任何劑量及任何途徑來使用。

對於疾病之預防或治療而言，本發明之抗體或免疫共軛物之適當劑量(當單獨使用或與諸如化學治療劑之一或多種其他額外治療劑組合使用時)將視待治療之疾病之類型、抗體或免疫共軛物之類型、疾病之嚴重性及病因、抗體或免疫共軛物係出於預防性目的抑或治療性目的而投與、先前療法、患者之臨床病史及對抗體或免疫共軛物之反應以及主治醫師之判斷而定。適當地向患者一次性地或經一系列治療投與抗體或免疫共軛物。視疾病之類型及嚴重性而定，無論(例如)藉由一或多次獨立投藥抑或藉由連續輸注，約1 μg/kg至100 mg/kg(例如0.1 mg/kg-20 mg/kg)之抗體或免疫共軛物可為向患者投與之初始候選劑量。一個典型日劑量可在約1 μg/kg至100 mg/kg或更高劑量之範圍內變化，此視上文所提及之因素而定。對於經數天或更長時間之重複投藥而言，視病狀而定，一般將持續治療直至對疾病症狀之所需抑制出現為止。抗體或免疫共軛物之一個例示性劑量將在約0.05 mg/kg至約10 mg/kg之範圍內。因此，可向患者投與約0.5 mg/kg、2.0 mg/kg、4.0 mg/kg或10 mg/kg(或其任何組合)中之一或多個劑量的抗體或免疫共軛物。該等劑量可間歇地投與，例如每週或每三週(例如以便使患者接受約兩個至約二十個或例如約六個劑量之抗體或免疫共軛物)。可投與初始較高負荷劑量，接著一或多個較低劑量。例示性給藥方案包含投與約4 mg/kg之初始負荷劑量，接著投與約2 mg/kg之抗體之每週維持劑量。然而，可使用其他給藥方案。此療法之進程易於藉由習知技術及檢定來監測。

C.活性檢定

可藉由此項技術中已知之各種檢定針對物理/化學特性及/或生物活性來表徵本發明之抗-CD79b抗體及免疫共軛物。

1.活性檢定

在一態樣中，提供用以鑑別具有生物活性之抗-CD79b抗體或其

免疫共軛物的檢定。生物活性可包括(例如)抑制細胞生長或增生之能力(例如，"細胞殺死"活性)；或誘導細胞死亡之能力，包括漸進式細胞死亡(細胞凋亡)。亦提供活體內及/或活體外具有該等生物活性之抗體或免疫共軛物。

在某些實施例中，對抗-CD79b抗體或其免疫共軛物測試其活體外抑制細胞生長或增生之能力。關於抑制細胞生長或增生之檢定在此項技術中係熟知的。由本文所述之"細胞殺死"檢定所例示的關於細胞增生之某些檢定量測細胞存活力。該種檢定為CellTiter-Glo™發光細胞存活力檢定，其可購自Promega(Madison, WI)。彼檢定基於所存在之ATP之量化來測定培養物中活細胞之數目，ATP為代謝活性細胞之指示。參見Crouch等人(1993) J. Immunol. Meth. 160:81-88，美國專利第6602677號。該檢定可以96孔或384孔形式進行，此使其能執行自動高產量篩選(HTS)。參見Cree等人(1995) AntiCancer Drugs 6:398-404。該檢定程序涉及將單一試劑(CellTiter-Glo®試劑)直接添加至培養細胞中。此導致細胞溶解且產生由螢光素酶反應產生之發光信號。該發光信號與所存在之ATP之量成比例，ATP之量與存在於培養物中之活細胞之數目成正比。可藉由光度計或CCD攝影機成像裝置記錄資料。發光輸出係以相對光單位(RLU)表示。

關於細胞增生之另一檢定為"MTT"檢定，亦即藉由線粒體還原酶量測溴化3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-2,5-二苯基四唑鎓鹽至甲臢之氧化的比色檢定。類似CellTiter-Glo™檢定，此檢定指示存在於細胞培養物中之代謝活性細胞之數目。參見(例如)Mosmann (1983) J. Immunol. Meth. 65:55-63及Zhang等人(2005) Cancer Res. 65:3877-3882。

在一態樣中，對抗-CD79b抗體測試其活體外誘導細胞死亡之能力。關於誘導細胞死亡之檢定在此項技術中係熟知的。在一些實施例中，該等檢定量測(例如)如藉由碘化丙啶(PI)、錐蟲藍(參見Moore等

人，(1995) Cytotechnology, 17:1-11)或7AAD之攝取所指示的膜完整性之損失。在一例示性PI攝取檢定中，將細胞培養於補充有10%熱滅活FBS(Hyclone)及2 mM L-麩胺醯胺之杜氏改良伊格爾培養基(D-MEM)：漢姆氏F-12(50:50)中。因此，在補體及免疫效應細胞不存在之情況下執行檢定。將細胞以每盤3×10^6個之密度接種於100×20 mm盤中且使其黏附隔夜。移除培養基且用單獨新鮮培養基或含有各種濃度之抗體或免疫共軛物之培養基置換。將細胞培養3天之時段。繼治療後，用PBS洗滌單層且藉由胰蛋白酶消化分離。接著於4℃下將細胞以1200 rpm離心5分鐘，將離心塊再懸浮於3 ml冷Ca^{2+}結合緩衝液(10 mM Hepes(pH 7.4)、140 mM NaCl、2.5 mM $CaCl_2$)中且等分至蓋有35 mm過濾器之12×75 mm管中(每管1 ml，每治療組3管)以移除細胞凝塊。接著管接受PI(10 μg/ml)。使用FACSCAN™流式細胞儀及FACSCONVERT™ CellQuest軟體(Becton Dickinson)分析樣品。由此鑑別如藉由PI攝取所測定之誘導統計學上顯著的細胞死亡量之抗體或免疫共軛物。

在一態樣中，對抗-CD79b抗體或免疫共軛物測試其活體外誘導細胞凋亡(漸進式細胞死亡)之能力。關於誘導細胞凋亡之抗體或免疫共軛物之一種例示性檢定為膜聯蛋白結合檢定。在一例示性膜聯蛋白結合檢定中，將細胞培養且接種於如前段中所論述之盤中。移除培養基且用單獨新鮮培養基或含有0.001 μg/ml至10 μg/ml之抗體或免疫共軛物之培養基置換。繼三天培養時段後，用PBS洗滌單層且藉由胰蛋白酶消化分離。接著將細胞離心，再懸浮於Ca^{2+}結合緩衝劑中，且等分至如前段中所論述之管中。接著管接受經標記之膜聯蛋白(例如膜聯蛋白V-FITC)(1 μg/ml)。使用FACSCAN™流式細胞儀及FACSCONVERT™ CellQuest軟體(BD Biosciences)分析樣品。由此鑑別相對於對照組誘導統計學上顯著的膜聯蛋白結合量之抗體或免疫共

軛物。關於誘導細胞凋亡之抗體或免疫共軛物之另一例示性檢定為用於偵測染色體組DNA之核小體間降解之組蛋白DNA ELISA比色檢定。此類檢定可使用(例如)細胞死亡偵測ELISA套組(Roche, Palo Alto, CA)來執行。

用於上述活體外檢定中之任一者的細胞包括天然表現CD79b或經工程化而表現CD79b之細胞或細胞株。該等細胞包括相對於相同組織來源之正常細胞過表現CD79b之腫瘤細胞。該等細胞亦包括表現CD79b之細胞株(包括腫瘤細胞株)及通常並不表現CD79b但已經編碼CD79b之核酸轉染之細胞株。

在一態樣中，對抗-CD79b抗體或其免疫共軛物測試其活體內抑制細胞生長或增生之能力。在某些實施例中，對抗-CD79b抗體或其免疫共軛物測試其活體內抑制腫瘤生長之能力。諸如異種移植模型之活體內模型系統可用於該測試。在一例示性異種移植系統中，將人類腫瘤細胞引入適當之免疫受損非人類動物(例如SCID小鼠)中。向該動物投與本發明之抗體或免疫共軛物。量測抗體或免疫共軛物抑制或降低腫瘤生長之能力。在上述異種移植系統之某些實施例中，人類腫瘤細胞為來自人類患者之腫瘤細胞。該等適用於製備異種移植模型之細胞包括人類白血病及淋巴瘤細胞株，其包括(但不限於)BJAB-luc細胞(經螢光素酶報導體基因轉染之EBV陰性伯基特氏淋巴瘤細胞株)、Ramos細胞(ATCC, Manassas, VA, CRL-1923)、SuDHL-4細胞(DSMZ, Braunschweig, Germany, AAC 495)、DoHH2細胞(參見Kluin-Neilemans, H.C.等人，Leukemia 5:221-224 (1991)及Kluin-Neilemans, H.C.等人，Leukemia 8:1385-1391 (1994))、Granta-519細胞(參見Jadayel, D.M.等人，Leukemia 11(1):64-72 (1997))。在某些實施例中，藉由皮下注射或藉由移植至合適部位(乳腺脂肪墊)中將人類腫瘤細胞引入適當之免疫受損非人類動物中。

2.結合檢定及其他檢定

在一態樣中，對抗-CD79b抗體測試其抗原結合活性。舉例而言，在某些實施例中，對抗-CD79b抗體測試其結合於表現於細胞表面上之CD79b之能力。FACS檢定可用於該測試。

在一態樣中，競爭性檢定可用於鑑別與鼠類MA79b抗體、人類化MA79b.v17抗體及/或人類化MA79b.v18及/或人類化MA79b.v28及/或人類化MA79b.v32抗體競爭結合於CD79b之單株抗體。在某些實施例中，此類競爭性抗體結合於由鼠類MA79b抗體、人類化MA79bv.17抗體及/或人類化MA79b.v18抗體及/或人類化MA79b.v28及/或人類化MA79b.v32所結合之同一抗原決定基(例如線性或構形抗原決定基)。例示性競爭性檢定包括(但不限於)常規檢定，諸如Harlow及Lane (1988) Antibodies: A Laboratory Manual ch.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY)中所提供之彼等者。關於定位抗體所結合之抗原決定基的詳細例示性方法係於Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols," in Methods in Molecular Biology第66卷(Humana Press, Totowa, NJ)中提供。若各自將另一者之結合阻斷50%或以上，則認為兩個抗體結合於同一抗原決定基。

在一例示性競爭性檢定中，將經固定之CD79b培養於包含可結合於CD79b之第一經標記之抗體(例如，鼠類MA79b抗體、人類化MA79b.v17抗體及/或人類化MA79b.v18抗體及/或人類化MA79b.v28及/或人類化MA79b.v32)及第二未經標記之抗體(測試其與第一抗體競爭結合於CD79b之能力)的溶液中。第二抗體可存在於融合瘤上清液中。作為對照組，將經固定之CD79b培養於包含第一經標記之抗體但不包含第二未經標記之抗體的溶液中。在容許第一抗體結合於CD79b之條件下培養後，移除過量未結合之抗體，且量測與經固定之CD79b相聯之標記的量。若測試樣品中與經固定之CD79b相聯之標記的量相

對於對照樣品大體上降低，則此指示第二抗體與第一抗體競爭結合於CD79b。在某些實施例中，經固定之CD79b存在於細胞表面上或存在於獲自表面上表現CD79b之細胞之膜製劑中。

在一態樣中，經純化之抗-CD79b抗體可進一步藉由一系列檢定來表徵，該等檢定包括(但不限於)N末端定序、胺基酸分析、非變性尺寸排除高壓液相層析(HPLC)、質譜法、離子交換層析及木瓜蛋白酶消化。

在一實施例中，本發明涵蓋一種經改變之具有一些但非所有效應功能的抗體，該等功能使其成為抗體之活體內半衰期較重要但某些效應功能(諸如補體及ADCC)並非必需或為有害之許多應用的理想候選者。在某些實施例中，量測抗體之Fc活性以確保僅維持所需特性。可進行活體外及/或活體內細胞毒性檢定以確定CDC及/或ADCC活性之降低/減少。舉例而言，可執行Fc受體(FcR)結合檢定以確保抗體缺乏FcγR結合(因此可能缺乏ADCC活性)，但保留FcRn結合能力。介導ADCC之初級細胞NK細胞僅表現FcγRIII，而單核細胞表現FcγRI、FcγRII及FcγRIII。造血細胞上之FcR表現係總結於Ravetch及Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-92 (1991)之第464頁之表3中。旨在評估所關注之分子之ADCC活性的活體外檢定之一實例係描述於美國專利第5,500,362號或第5,821,337號中。適用於該等檢定之效應細胞包括周邊血液單核細胞(PBMC)及自然殺手(NK)細胞。或者或另外，所關注之分子之ADCC活性可在活體內評估，例如在諸如Clynes等人. PNAS (USA) 95:652-656 (1998)中所揭示之動物模型中。亦可進行C1q結合檢定以確定抗體不能結合C1q且因此缺乏CDC活性。為評估補體活化，可執行CDC檢定，例如Gazzano-Santoro等人，J. Immunol. Methods 202:163 (1996)中所述。亦可使用此項技術中已知之方法執行FcRn結合及活體內清除率/半衰期測定。

僅出於說明性目的提供下列實例，而非意欲以任何方式限制本發明之範疇。

本說明書中所引用之所有專利及參考文獻係以全文引用的方式併入本文中。

實例

除非另有指示，否則根據製造商之說明書使用實例中所提及之市售試劑。實例中所用之抗體包括市售抗體且包括(但不限於)抗-CD79b(購自Biomeda(Foster City, CA)或BDbioscience(San Diego, CA)或Ancell(Bayport, MN)之抗體)、抗-CD79b(由1993年7月20日以HB11413寄存於ATCC之融合瘤產生)及嵌合抗-CD79b抗體(包含來自由1993年7月20日以HB11413寄存於ATCC之融合瘤產生之抗體的可變域)。下列實例中及通篇說明書中以ATCC寄存編號標識之彼等細胞之來源為美國菌種保藏中心，Manassas, VA。

實例1：人類化抗-CD79b抗體之產生

殘基編號係根據Kabat(Kabat等人，*Sequences of proteins of immunological interest*，第5版，Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991))。使用單字母胺基酸縮寫。DNA簡併係使用IUB代碼表示(N=A/C/G/T、D=A/G/T、V=A/C/G、B=C/G/T、H=A/C/T、K=G/T、M=A/C、R=A/G、S=G/C、W=A/T、Y=C/T)。

A.人類化抗-CD79b抗體接枝物

產生各種人類化抗-CD79b抗體。將來自鼠類MA79b抗體(MA79b)(羅斯威爾帕克癌症研究所(Roswell Park Cancer Institute)；Okazaki等人，*Blood*, 81:84-94 (1993))之VL及VH域與人類一致VL κ I(huKI)及人類亞群III一致VH(huIII)域比對。為製造HVR接枝物，使用於如下3個位置處不同於人類亞群III一致VH域之受體VH構架：

R71A、N73T及L78A(Carter等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:4285 (1992))。將來自鼠類MA79b(MA79b)之高變區工程化至受體人類一致構架中以產生MA79b之直接HVR接枝物(本文中稱為"MA79b接枝物"或"MA79b-接枝物"或"MA79b-接枝 '人類化'抗體"或"huMA79b-接枝物")。在VL域中，將下列區域接枝於人類一致受體：位置24-34(L1)、50-56(L2)及89-97(L3)(圖7A-B)。在VH域中，接枝位置26-35(H1)、49-65(H2)及93-102(H3)(圖8A-B)。MacCallum等人(MacCallum等人，*J. Mol. Biol.*, 262: 732-745 (1996))分析抗體及抗原複合物晶體結構且發現重鏈之位置49、93及94為接觸區之部分且因此當人類化抗體時包括在HVR-H2及HVR-H3之定義中。

藉由Kunkel突變誘發，對於各高變區使用獨立寡核苷酸，以呈現於噬菌體上之Fab形式及以IgG形式產生直接-接枝物變異體(huMA79b-接枝物)。藉由DNA定序來評估正確純系。

B.人類化抗-CD79b抗體接枝物變異體

使用噬菌體庫產生在MA79b接枝"人類化"抗體之高變區中包括突變多樣性之抗-CD79b抗體接枝物變異體。抗-CD79b抗體接枝物變異體包括HVR中之單一位置變化(圖9)或HVR中之多個位置變化(圖10)。

C.噬菌體選擇

對於噬菌體選擇而言，於4℃下將CD79b之細胞外域($huCD79b_{ecd}$)(2 μg/ml)固定於MaxiSorp微量滴定板(Nunc)上之PBS中隔夜。使用酪蛋白阻斷劑(Pierce)使板阻斷至少1 h。自培養物上清液收集噬菌體且將其懸浮於含有0.5% BSA及0.05% Tween 20(PBSBT)之PBS中。繼添加噬菌體庫及噬菌體選擇歷時2 h後，用含有0.05% Tween 20(PBST)之PBS廣泛地洗滌微量滴定孔以移除未結合之噬菌體且藉由將該等孔與100 mM HCl一起培養30 min來溶離結合之噬菌體。可在連續輪選擇期間藉由在溶離之前增加用PBST洗滌之次數或

藉由與可溶性huCD79b$_{ecd}$一起培養歷時增加之時段來增加選擇嚴格性。

用1 M Tris(pH 8)中和溶離之噬菌體且使用XL1-Blue細胞及M13/KO7輔助噬菌體擴增並於37℃下於2YT、50 μg/ml羧苄西林(carbenacillin)中生長隔夜。將自含有靶之孔溶離之噬菌體的效價與自不含有靶之孔回收之噬菌體的效價比較以評估富集。

D. Fab產生及IgG產生

為表現Fab蛋白質以供親和力量測，將終止密碼子引入重鏈與噬菌體呈現載體中之g3之間。將純系轉型至大腸桿菌34B8細胞中且於30℃下生長於完全C.R.A.P.培養基中(Presta等人. *Cancer Res.* 57: 4593-4599 (1997))。藉由離心收穫細胞，將其懸浮於PBS、100 μM PMSF、100 μM苄脒、2.4 mM EDTA中且使用微流體化儀使其破碎。用蛋白質G親和層析純化Fab。

出於篩選目的，最初在293細胞中產生IgG變異體。使用FuGene系統將編碼VL及VH之載體(25 μg)轉染至293細胞中。將500 μl FuGene與4.5 ml不含有FBS之DMEM培養基混合且於室溫下培養5 min。將每一鏈(25 μg)添加至此混合物中且於室溫下培養20 min並接著轉移至燒瓶中以於37℃、5% CO_2下轉染隔夜。第二天，移除含有轉染混合物之培養基且用23 ml具有0.1 ml/L痕量元素(A0934)及10 mg/L胰島素(A0940)之PS04培養基置換。將細胞再培養5天，之後以1000 rpm收穫培養基歷時5 min且使用0.22 μm低蛋白質結合過濾器進行無菌過濾。可在對每125 ml培養基添加2.5 ml 0.1% PMSF後將樣品儲存於4℃下。

E.親和力測定(Biacore分析)

對於MA79b接枝"人類化"抗體變異體之親和力測定而言，使人類CD79b之細胞外域(huCD79b$_{ecd}$)單獨地或以Fc融合物(huCD79b$_{ecd}$-Fc)

形式表現於CHO細胞中且藉由習知方式加以純化。另外，藉由習知方式合成含有MA79b之抗原決定基之16個胺基酸的肽(ARSEDRYRNPKGSACK)(SEQ ID NO: 16)。

MA79b抗體(在圖19中標為"測試肽")之抗原決定基之表徵先前揭示於2006年8月3日申請之美國申請案第11/462,336號中。MA79b之抗原決定基位於跨膜域遠端之細胞外肽區域中且存在於全長及截短形式之人類CD79b中(Cragg, *Blood,* 100(9): 3068-76 (2002))，該等形式已被描述見於正常及惡性B細胞中(Hashimoto, S.等人，*Mol. Immunol.*, 32(9): 651-9 (1995)；Alfarano等人，*Blood*, 93(7): 2327-35 (1999))。截短形式之CD79b缺乏整個細胞外Ig樣域(在圖19中將不存在於拼接截短形式之CD79b中之細胞外Ig樣域加框)。

藉由表面電漿共振量測MA79b之Fab及IgG變異體、MA79b接枝"人類化"抗體或MA79b接枝"人類化"抗體變異體與經固定之huCD79b$_{ecd}$或huCD79b-Fc或含有MA79b之抗原決定基之16個胺基酸的肽之結合。藉由表面電漿共振使用BIAcore™-2000來執行親和力測定。將抗原huCD79b$_{ecd}$或huCD79b-Fc固定(約50-200 RU)於CM5感應器晶片上之10 mM乙酸鈉(pH 4.8)中。由於親和力效應大，親和力量測易受所固定之huCD79b$_{ecd}$之量影響。為此，將對於不同日期過柱之樣品所測定之親和力標準化至作為標準在旁邊過柱之MA79b。在量測與含有MA79b之抗原決定基之16個胺基酸的肽(ARSEDRYRNPKGSACK)(SEQ ID NO: 16)之結合之實驗中，用塗有抗生蛋白鏈菌素之感應器晶片捕捉生物素標記肽(約20 RU)。以30 μL/min之流動速率注射經純化之MA79b接枝"人類化"抗體變異體(呈Fab或IgG形式)(於PBST中之0.5 nM至1000 nM之2倍連續稀釋液)。對每一樣品分析4分鐘締合及10分鐘解離。在每次注射後，使用10 mM甘胺酸(pH 1.7)使該晶片再生。

藉由自MA79b接枝"人類化"抗體變異體(呈Fab或IgG形式)流動細胞減去對照流動細胞來校正結合反應。使用k_{on}及k_{off}之同時擬合之1:1朗繆爾模型(Languir model)進行動力學分析。

F.結合分析(FACS分析)

為進一步測定MA79b接枝"人類化"抗體或抗體變異體之Fab變異體之結合，使用FACS分析來分析Fab及/或IgG變異體與DoHH-2細胞之結合。此外，使用FACS分析來分析MA79b接枝"人類化"抗體變異體與BJAB-螢光素酶細胞之結合。

對於MA79b接枝"人類化"抗體變異體之Fab變異體(MA79b接枝"人類化"抗體(IgG形式用作對照組))之FACS分析而言，首先在有或無1 μg原始小鼠抗-CD79b單株抗體(MA79b)之情況下培養DoHH-2細胞(100 μl體積中1×10^6個)歷時30分鐘，隨後添加1 μg個別Fab變異體(或對照組抗體)。使用PE共軛之小鼠抗-人類Ig、κ輕鏈(純系G20-193，BD Biosciences, San Diego, CA)作為第二偵測抗體，此係因為所有Fab變異體均帶有κ輕鏈且DoHH-2細胞不於細胞表面上表現κ輕鏈。

對於MA79b接枝"人類化"抗體變異體之IgG變異體之另外FACS分析(chMA79b之IgG形式用作對照組)而言，每百萬細胞之BJAB-螢光素酶細胞滴定1.0 μg、0.1 μg或0.01 μg之抗體。使用PE共軛之小鼠抗-人類Ig作為第二偵測抗體。

G.親和力測定(Scatchard分析)

為進一步測定於HVR-L2及HVR-H3中具有變化之IgG變異體(huMA79b L2/H3)之結合，分析經碘化之IgG變異體與表現人類CD79b及獼猴CD79b之BJAB細胞的結合且執行Scatchard分析。

對於Scatchard分析而言，在穩定表現獼猴CD79b及內源性人類CD79b之經轉染之BJAB株存在下，0.5 nM I^{125}標記之MA79b或huMA79b L2/H3分別與範圍為50 nM至0.02 nM(12步1:2連續稀釋)之未

標記之MA79b或huMA79b L2/H3競爭。於4℃下四小時培養後，洗滌細胞且藉由γ計數器(1470 WIZARD自動γ計數器；Perkin Elmer, Walthem, MA)讀取細胞小球計數。所有點均重複進行三次且計數歷時10分鐘。使用新配位體(Genentech, South San Francisco, CA)程式將平均CPM用於Kd計算。

結果與討論

A.人類化抗-CD79b抗體之產生之結果

用於產生人類化抗-CD79b抗體之人類受體構架包含一致人類κ I VL域及人類亞群III一致VH域之變異體。變異VH域具有來自人類一致：R71A、N73T及L78A之3個變化。將MA79b之VL及VH域與人類κ I及亞群III域比對；鑑別每一HVR且接著將其接枝於人類受體構架中以產生可以Fab形式呈現於噬菌體上之HVR接枝物(圖7及8)。

以Fab形式呈現MA79b-接枝物之噬菌體結合於經固定之huCD79b$_{ecd}$(資料未顯示)。然而，當huMA79b-接枝物序列係以IgG表示時，其對huCD79b$_{ecd}$之親和力之FACS分析指示結合親和力已降低超過100倍(資料未顯示)且Biacore分析指示損失超過50倍(圖11)。

1. CDR修復

鑑別能夠結合於具有下列序列變化之經固定之huCD79b$_{ecd}$的MA79b接枝"人類化"抗體變異體。

在含有單一位置變化之庫中僅觀察到靶向VL中之HVR的序列變化且將之展示於圖9中(**對於L1突變**：Q27K(SEQ ID NO: 17；SPL-2突變))、(**對於L2突變**：L54R(SEQ ID NO: 18)、E55K(SEQ ID NO: 19))及(**對於L3突變**：E93S(SEQ ID NO: 20；SPL-5突變)、E93K(SEQ ID NO: 21))。

在含有多個位置變化之庫中僅觀察到靶向L2、L3、H1及H3中之HVR的序列變化且將之展示於圖10中(**對於L2突變**：S52R、N53K、

E55G及S56R(SEQ ID NO: 22；L2-2突變)；N53R(SEQ ID NO: 23)；S52R、N53K、E55G及S56N(SEQ ID NO: 24)；S52R、N53K、E55K及S56R(SEQ ID NO: 25)；S52R、N53Y、E55K及S56R(SEQ ID NO: 26；L2-29突變)；S52R、N53K及E55K(SEQ ID NO: 27)；S52R、N53K及E55A(SEQ ID NO: 28)；S52G、N53I、E55A及S56R(SEQ ID NO: 29)；S52R、N53K、E55R(SEQ ID NO: 30)；S52R、N53K及E55G(SEQ ID NO: 31；L2-38突變)；S52R、N53H、E55K及S56R(SEQ ID NO: 32)；A51S、S52R、N53Y、E55S及S56R(SEQ ID NO: 33)；A51G、N53K、E55L及S56R(SEQ ID NO: 34)；L54R及E55K(SEQ ID NO: 35)；N53K及E55G(SEQ ID NO: 36)；S52R、N53Y、E55R及S56R(SEQ ID NO: 37)；S52R、N53R、E55R及S56T(SEQ ID NO: 38)；S52R、N53R、E55G及S56R(SEQ ID NO: 39)；S52R、N53Q、L54R、E55K及S56R(SEQ ID NO: 40)；S52R、N53K、E55L及S56R(SEQ ID NO: 41)；S52R、N53K、E55K及S56N(SEQ ID NO: 42)；S52R、N53K、E55G及S56T(SEQ ID NO: 43)；S52R、N53K、E55G及S56G(SEQ ID NO: 44)；及S52R、N53K、E55A及S56R(SEQ ID NO: 45))、(**對於L3突變**：E93A(SEQ ID NO: 46)；E93Q(SEQ ID NO: 47)；無突變(SEQ ID NO: 48)；E93D(SEQ ID NO: 49)；E93L(SEQ ID NO: 50)；Q89N、Q90N、E93G及T97N(SEQ ID NO: 51)；Q90P、S91D、D94A及L96R(SEQ ID NO: 52)；Q89D、S91R及E93A(SEQ ID NO: 53))、(**對於H1突變**：T28P、S30T、S31R及E35S(SEQ ID NO: 54)；T28P、S30R及E35Q(SEQ ID NO: 55)；T28P、S30T及E35N(SEQ ID NO: 56)；T28P、S30T、S31R及E36N(SEQ ID NO: 57；H1-6突變))；S30N、S31R及E35N(SEQ ID NO: 58)；T28S及S30K(SEQ ID NO: 59)；G26P、T28S、F29L、S30C、S31T、W33F及E35D(SEQ ID NO: 60)；T28Y及S30T(SEQ ID

NO: 61)；T28P、S30G、S31R、I34V及E35N(SEQ ID NO: 62)；S30K及S31K(SEQ ID NO: 63)；T28P、S30T及E35Q(SEQ ID NO: 64)；T28P、S30R及S31R(SEQ ID NO: 65)；T28P、F29V、S30G、S31R及E35S(SEQ ID NO: 66)；T28P、S30N、S31R及E35N(SEQ ID NO: 67；H1-1突變)；T28G、S30T及E35S(SEQ ID NO: 68)；S30T、I34L及E35S(SEQ ID NO: 69)；S30T(SEQ ID NO: 70)；S31G及E35N(SEQ ID NO: 71)；S30R、S31R及E35N(SEQ ID NO: 72)；T28S、S30R及E35N(SEQ ID NO: 73)；T28S、S30R、S31R及E35N(SEQ ID NO: 74)；T28S、S30R及S31R(SEQ ID NO: 75)；T28S、S30P、I34L及E35Q(SEQ ID NO: 76)；T28P、S30T及S31R(SEQ ID NO: 77)；T28P及S31G(SEQ ID NO: 78)；T28P、S30R及E35S(SEQ ID NO: 79)；T28P、S30R及E35N(SEQ ID NO: 80)；T28P、S30R及S31G(SEQ ID NO: 81)；T28P、S30N及S31R(SEQ ID NO: 82)；T28P、S30N、S31G及E35N(SEQ ID NO: 83)；T28N、F29V、I34L及E35S(SEQ ID NO: 84)；Y27F、T28P、S30T及E35S(SEQ ID NO: 85)；及Y27F、T28P、S30N、S31R及E35N(SEQ ID NO: 86))及(**對於H3突變**：V98I及F100L(SEQ ID NO: 87；H3-12突變)；無突變(SEQ ID NO: 88)；Y99K及F100L(SEQ ID NO: 89)；F100L(SEQ ID NO: 90)；V98I(SEQ ID NO: 91)；V98F、Y99C及F100L(SEQ ID NO: 92)；F100L(SEQ ID NO: 93)；V98I、Y99R及F100L(SEQ ID NO: 94；H3-10突變)；V98I、Y99K及F100L(SEQ ID NO: 95)；V98I及Y99R(SEQ ID NO: 96)；V98I(SEQ ID NO: 97)；D101S(SEQ ID NO: 98)；Y99V及F100L(SEQ ID NO: 99)；Y99R及F100L(SEQ ID NO: 100)；Y99R(SEQ ID NO: 101)；Y99F及F100L(SEQ ID NO: 102)；V98I及F100L(SEQ ID NO: 103)；V98I(SEQ ID NO: 104)；V96R、Y99C及F100L(SEQ ID NO: 105)；及V96I(SEQ ID NO: 106))H。

將所選純系重組為Fab以藉由FACS分析且重組為IgG以進一步藉由Biacore及Scatchard分析。

a.親和力測定(Biacore分析)

如展示Biacore分析結果之圖11中所示，此CDR修復途徑鑑別改善MA79b接枝"人類化"抗體之親和力的許多個別序列變化。表面電漿共振檢定顯示儘管具有單一HVR變化之測試變異體中無一者具有類似於MA79b之親和力，但當結合於經固定之huCD79b$_{ecd}$或huCD79b$_{ecd}$-Fc或含有MA79b之抗原決定基之16個胺基酸的肽時，在HVR-L2及HVR-H3中所鑑別之變化之組合(MA79b接枝"人類化"抗體變異體L2/H3；本文中亦稱為huMA79b L2/H3)產生具有如藉由Biacore分析所測定與MA79b類似之親和力(圖11)之變異體。

對MA79b與抗原(huCD79b$_{ecd}$-Fc)之單體結合(Fab)對比二聚結合(IgG)之分析(圖11，第1列，比較Fab與IgG行)表明親和力改善之變異體中可能缺乏存在於MA79b中之100倍親和力組分。具體而言，在展示與MA79b相比在單體結合中改善5倍(圖11，第1及3列，比較Fab行)之MA79b接枝"人類化"抗體變異體L2-2(本文中亦稱為huMA79b L2-2)中，在將huMA79b L2-2重組為IgG後無明顯親和力增加(圖11，第4列，比較Fab與IgG行)。另外，初始MA79b HVR接枝"人類化"抗體(huMA79b接枝物)展示在結合中損失此親和力組分(圖11，第2列，比較Fab與IgG行)。經由親和力增強結合之能力在結合細胞表面抗原中可為可取的。

b.親和力測定(Scatchard分析)

如藉由Scatchard分析所評估，此CDR修復途徑鑑別改善MA79b接枝"人類化"抗體之親和力的許多個別序列變化。具體而言，細胞結合檢定顯示MA79b及MA79b接枝"人類化"抗體變異體L2/H3(huMA79b L2/H3)(重組為IgG)對於結合穩定表現獼猴CD79b及內源性人類CD79b

之BJAB細胞的親和力如藉由Scatchard分析所測定分別為0.63 nM(MA79b ； Kd=0.63 ± 0.14 nM)及0.52 nM(huMA79b L2/H3 ； Kd=0.52 ± 0.1 nM)之Kd值(資料未顯示)。

c.結合測定(FACS測定)

如藉由FACS分析所評估，此CDR修復途徑鑑別改善MA79b接枝"人類化"抗體(huMA79b接枝物)與DoHH-2細胞之結合(資料未顯示)的許多個別序列變化。具體而言，對自SP及6 SR庫鑑別之Fab變異體(L2-2、H3-10及H1-1突變)與DoHH-2細胞之FACS分析顯示Fab變異體及huMA79b接枝物(經組建為IgG形式)與DoHH-2細胞之結合(資料未顯示)。此外，Fab變異體之FACS分析顯示藉由與鼠類抗-CD79b單株抗體(MA79b)一起預培養來阻斷Fab變異體與DoHH-2細胞之結合(資料未顯示)。

2.構架修復

引入huMA79b L2/H3變異體之HVR-L2中之HVR序列變化根本上與任何人類生殖系中所觀察到之彼等變化不同。觀察到huMA79b L2/H3變異體當與DM1共軛時在活體內小鼠異種移植模型中有效抑制腫瘤生長(表9)。因為對huMA79b L2/H3變異體與抗原之單體結合(Fab)對比二聚結合(IgG)之分析顯示親和力之損失(圖11)，所以如下文所述執行構架修復。

為研究構架位置在二聚抗原結合中之作用，建構"所有構架"位置變異體，其中將潛在重要的鼠類構架位置併入MA79b HVR接枝"人類化"抗體(huMA79b接枝物)中。如藉由Biacore分析及Scatchard分析所評估，此缺乏任何HVR變化之變異體(在圖12中稱為"所有構架")具有類似於嵌合MA79b抗體(chMA79b)之二聚結合親和力(圖12)。

產生於位置4及/或47(VL)及/或位置47、48、67、69、71、73、74、78及/或80(VH)處包括鼠類構架殘基之IgG變異體以確定維持高親

和力、二聚結合所需之最小構架位置組(圖12)。鼠類構架殘基係展示於圖7A-B(SEQ ID NO: 10)及圖8A-B(SEQ ID NO: 14)中。如由MA79b接枝"人類化"抗體變異體17(huMA79b.v17)(圖12，標為17之列)所證明，發現VL中之構架位置47及VH中之構架位置75與80並非必需的。

在VL中之位置4及VH中之位置48、67、69、71、73及78處包括鼠類構架殘基且進一步包括HVR-H3中之變化(在圖12中稱為"H3-10"且在上文中描述為H3-10突變)(包括V98I、Y99R及F100L)的MA79b接枝"人類化"抗體變異體18(MA79b.v18；圖12，標為18之列)顯示在與變異體17(圖12，標為17之列)相比時在二聚結合中又改善2倍(圖12，標為28之列)。

為避免潛在的製造問題，藉由將D28轉化為Glu(麩胺酸)(D28E；參見變異體28；本文中亦稱為"huMA79b.v28"；圖12，標為28之列)消除MA79b接枝"人類化"抗體變異體之HVR-L1中的潛在異天冬胺酸形成位點(Asp-Gly)。為了穩定性，亦容許MA79b接枝"人類化"抗體變異體之VL中存在其他取代，包括D28轉化為Ser(絲胺酸)(D28E；參見變異體32；本文中亦稱為"huMA79b.v32"；圖12，標為32之列)。

經由Biacore分析表徵MA79b接枝"人類化"抗體變異體28(huMA79b.v28；圖12，標為28之列)，其包括：(1)VL中之位置4及VH中之位置48、67、69、71、73及78處之鼠類構架殘基；(2)進一步包括HVR-H3中之變化(在圖12中稱為"H3-10"且在上文中描述為H3-10突變)，包括V98I、Y99R及F100L；且(3)甚至進一步包括HVR-L1之變化(D28E，上文所述)。

經由Biacore分析表徵MA79b接枝"人類化"抗體變異體32(MA79b.v32；圖12，標為32之列)，其包括：(1)VL中之位置4及VH中之位置48、67、69、71、73及78處之鼠類構架殘基；(2)進一步包括HVR-H3中之變化(在圖12中稱為"H3-10"且在上文中描述為H3-10突

變)，包括V98I、Y99R及F100L；且(3)甚至進一步包括HVR-L1之變化(D28S，上文所述)。

a.親和力測定(Biacore分析)

如顯示Biacore分析結果之圖12中所示，此構架修復途徑鑑別改善MA79b接枝"人類化"抗體與huCD79b$_{ecd}$之親和力的許多個別序列變化。表面電漿共振檢定顯示MA79b接枝"人類化"抗體變異體28(huMA79b.v28；具有VL中之鼠類構架位置4、VH中之鼠類構架位置48、67、69、71、73及78以及HVR-H3中之H3-10突變(V98I、Y99R及F100L)(上文亦有描述)及HVR-L1中之D28E突變(關於穩定性，參見上文描述)；圖12，標為28之列)及MA79b接枝"人類化"抗體變異體(huMA79b.v32；具有VL中之鼠類構架位置4、VH中之鼠類構架位置47、48、67、69、71、73及78以及HVR-H3中之H3-10突變(V98I、Y99R及F100L)(上文亦有描述)及HVR-L1中之D28S突變(關於穩定性，參見下文描述)；圖12，標為32之列)在結合於經固定之huCD79b$_{ecd}$時具有如藉由Biacore分析所測定等於嵌合MA79b抗體(chMA79b)之親和力。

b.親和力測定(Scatchard分析)

如藉由類似於Biacore分析之Scatchard分析所評估，此構架修復途徑鑑別改善MA79b接枝"人類化"抗體(huMA79b接枝物)之親和力的許多個別序列變化。細胞結合檢定顯示MA79b、MA79b接枝"人類化"抗體變異體28(huMA79b.v28；參見圖12，標為28之列)(重組為IgG)及MA79b接枝"人類化"抗體變異體32(huMA79b.v32；參見圖12，標為32之列)對於結合穩定表現獼猴CD79b及內源性人類CD79b之BJAB細胞的親和力如藉由Scatchard分析所測定分別為0.63 nM(MA79b；Kd=0.63 ± 0.14 nM)、0.44 nM(huMA79b.v28；Kd=0.44 ± 0.04 nM)及0.24 nM(huMA79b.v32；Kd=0.24 ± 0.02 nM)之Kd值(資料未顯示)。

c.結合測定(FACS測定)

如藉由FACS分析所評估，此構架修復途徑鑑別改善MA79b接枝"人類化"抗體(huMA79b接枝物)與BJAB-螢光素酶細胞之結合(資料未顯示)的許多個別序列變化。具體而言，對MA79b接枝"人類化"抗體變異體(變異體huMA79b.v28及huMA79b.v32)之IgG變異體與BJAB-螢光素酶細胞之FACS分析顯示結合於BJAB-螢光素酶細胞(資料未顯示)。

B.人類化抗-CD79b抗體之產生之討論

自6個鼠類MA79b HVR(定義為位置24-34(L1)、50-56(L2)、89-97(L3)、26-35(H1)、49-65(H2)及93-102(H3))接枝於人類一致κ I VL及亞群III VH(含有A71、T73及A78)中開始，使用CDR修復來鑑別改善結合親和力之HVR 1-6中之變化。圖10及11中所鑑別之HVR序列變化或此等變化之組合產生具有類似於MA79b之親和力的MA79b之人類化變異體。

或者，藉由將VL中之構架位置4及VH中之構架位置48、67及69添加至huMA79b接枝物(其於VH之71、73及78處包括鼠類構架殘基)(圖12；MA79b接枝"人類化"抗體變異體17(huMA79b.v17))來使用構架修復重獲二聚結合親和力。此等構架突變變異體對huCD79b$_{ecd}$抗原之親和力係進一步藉由在HVR-H3中添加如下3個變化而增強：V98I、Y99R及F100L(圖12；MA79b接枝"人類化"抗體變異體18(huMA79b.v18))。用D28E突變(圖12；MA79b接枝"人類化"抗體變異體28(huMA79b.v28))消除HVR-L1中之潛在異天冬胺酸形成位點。

實例2：抗-CD79b抗體藥物共軛物(ADC)之產生

為測試MA79b接枝"人類化"抗體變異體之IgG變異體之功效，使MA79b接枝"人類化"抗體變異體與諸如DM1之藥物共軛。與DM1共軛之變異體包括於HVR-L2及HVR-H3中具有變化之變異體(huMA79b

L2/H3)、huMA79b.v17、huMA79b.v18、huMA79b.v28及huMA79b.v32。

用於產生抗-CD79b抗體之抗體藥物共軛物(ADC)之藥物包括美登素類DM1及海兔毒素10衍生物單甲基奧瑞他汀E(MMAE)及單甲基奧瑞他汀F(MMAF)。(US 2005/0276812；US 2005/0238649；Doronina等人，*Bioconjug. Chem.*, 17:114-123 (2006)；Doronina等人，*Nat. Biotechnol.*, 21: 778-784 (2003)；Erickson等人，*Cancer Res.*, 66: 4426-4433 (2006)，所有該等文獻均以全文引用的方式併入本文中)。適用於產生ADC之連接子對於DM1為BMPEO、SPP或SMCC(本文中亦稱為"MCC")且對於MMAE及MMAF為MC或MC-vc-PAB。對於DM1而言，使用連接子試劑SMCC使抗體經由離胺酸之ε-胺基連接於DM1之硫基。或者，對於DM1而言，使用SPP連接子使抗體經由離胺酸之ε-胺基連接於DM1。SPP(4-(2'-吡啶基硫基)戊酸N-丁二醯亞胺酯)與離胺酸之ε胺基反應以於蛋白質上留下反應性2-吡啶基二硫化物連接子。在SPP連接子情況下，在與游離硫氫基(例如DM1)反應後，吡啶基被置換，從而留下經由還原性二硫鍵連接之DM1。在還原條件下釋放經由SPP連接子連接之DM1(亦即，例如在細胞內)，而在還原條件下經由SMCC連接子連接之DM1對裂解具抗性。此外，若使ADC內在化且靶向溶酶體，從而引起離胺酸-N^{ε}-DM1(其為細胞內之有效抗有絲分裂劑)之釋放，則SMCC-DM1 ADC誘導細胞毒性，且當自細胞釋放時，離胺酸-N^{ε}-DM1為無毒的(Erickson等人，*Cancer Res.*, 66: 4426-4433 (2006))。對於MMAE及MMAF而言，抗體係藉由順丁烯二醯亞胺基己醯基-纈胺酸-瓜胺酸(vc)-對胺基苄氧羰基(MC-vc-PAB)經由半胱胺酸連接於MMAE或MMAF。對於MMAF而言，或者，抗體係藉由順丁烯二醯亞胺基己醯基(MC)連接子經由半胱胺酸連接於MMAF。MC-vc-PAB連接子可由諸如組織蛋白酶B之細胞間蛋白酶所裂解且當裂解時

釋放游離藥物(Doronina等人，*Nat. Biotechnol.*, 21: 778-784 (2003))，而MC連接子對細胞內蛋白酶裂解具有抗性。

類似於US 2005/0276812中所述之程序產生使用SMCC及DM1之抗-CD79b之抗體藥物共軛物(ADC)。將抗-CD79b純化之抗體緩衝劑交換至含有50 mM磷酸鉀及2 mM EDTA(pH 7.0)之溶液中。將SMCC(Pierce Biotechnology, Rockford, IL)溶解於二甲基乙醯胺(DMA)中且添加至抗體溶液中以構成10:1之最終SMCC/Ab莫耳比率。於室溫下使該反應在混合下進行三個小時。隨後將經SMCC修飾之抗體用以35 mM檸檬酸鈉及150 mM NaCl與2 mM EDTA(pH 6.0)平衡之GE Healthcare HiTrap脫鹽管柱(G-25)純化。將溶解於DMA中之DM1添加至SMCC抗體製劑中以得到10:1之DM1與抗體之莫耳比率。於室溫下使該反應在混合下進行4-20小時。用20體積之PBS透濾經DM1修飾之抗體溶液以移除未反應之DM1，進行無菌過濾，且儲存於4℃下。通常，經由此過程獲得40-60%產率之抗體。如藉由凝膠過濾及雷射光散射所評估，製劑通常>95%為單體。因為DM1於252 nm下具有吸收最大值，所以可藉由於252及280 nm下之差異吸收量測來測定結合於抗體之藥物之量。通常，藥物與抗體之比率為3比4。

類似於US 2005/0276812中所述之程序產生使用SPP-DM1連接子之本文所述之抗-CD79b抗體的抗體藥物共軛物(ADC)。將抗-CD79b純化之抗體緩衝劑交換至含有50 mM磷酸鉀及2 mM EDTA(pH 7.0)之溶液中。將SPP (Immunogen)溶解於DMA中且添加至抗體溶液中以構成約10:1之最終SPP/Ab莫耳比率，精確比率視抗體之所需藥物負荷而定。10:1比率通常將導致約3-4之藥物與抗體之比率。於室溫下使SPP在混合下反應3-4小時。隨後將經SPP修飾之抗體用以35 mM檸檬酸鈉及150 mM NaCl與2 mM EDTA(pH 6.0)或磷酸鹽緩衝生理食鹽水(pH 7.4)平衡之GE Healthcare HiTrap脫鹽管柱(G-25)純化。將DM1溶解於

DMA中且添加至SPP抗體製劑中以得到10:1之DM1與抗體之莫耳比率，此導致超過抗體上之可用SPP連接子3-4倍莫耳過量。於室溫下使與DM1之反應在混合下進行4-20小時。用20體積之PBS透濾經DM1修飾之抗體溶液以移除未反應之DM1，進行無菌過濾，且儲存於4℃下。通常，以此過程獲得40-60%或更大之抗體產率。如藉由凝膠過濾及雷射光散射所評估，抗體-藥物共軛物通常>95%為單體。如對於製備SMCC-DM1共軛物(上文所述)所述，藉由於252及280 nm下之差異吸收量測來測定結合藥物之量。

亦可類似於US 2005/0238649中所述之程序產生使用MC-MMAF、MC-MMAE、MC-val-cit(vc)-PAB-MMAE或MC-val-cit(vc)-PAB-MMAF藥物連接子之本文所述之抗-CD79b抗體的抗體藥物共軛物(ADC)。將經純化之抗-CD79b抗體溶解於500 mM硼酸鈉及500 mM氯化鈉(pH 8.0)中且進一步用過量100 MM二硫蘇糖醇(DTT)處理。於37℃下培養約30分鐘後，藉由經由葡聚糖凝膠G25樹脂溶離來交換緩衝劑且用具有1 mM DTPA之PBS進行溶離。藉由根據溶液於280 nm下之吸光度來測定還原抗體濃度且藉由與DTNB(Aldrich, Milwaukee, WI)反應並測定於412 nm下之吸光度來測定硫醇濃度，從而檢驗硫醇/Ab值。將還原之抗體溶解於用冰冷卻之PBS中。將於DMSO中之例如MC-val-cit(vc)-PAB-MMAE之藥物連接子溶解於乙腈及水中，且添加至於PBS中之經冷卻、經還原的抗體中。在一小時培養後，添加過量順丁烯二醯亞胺以中止反應且將任何未反應之抗體硫醇基封端。藉由離心超濾濃縮反應混合物且將抗體藥物共軛物純化並藉由以PBS經由G25樹脂溶離來脫鹽，在無菌條件下經由0.2 μm過濾器過濾，並冷凍儲存。

將抗體藥物共軛物(使用本文所述之抗-CD79b抗體)以2×10 μg/ml稀釋於檢定培養基中。用交聯劑SMCC連接共軛物(替代性二硫化物連

接子SPP可用於美登素類DM1毒素)(參見US 2005/0276812及US 2005/0238649)。此外，可用MC-纈胺酸-瓜胺酸(vc)-PAB或MC使共軛物連接於海兔毒素10衍生物單甲基奧瑞他汀E(MMAE)毒素或單甲基奧瑞他汀F(MMAF)毒素(參見2005年5月31日申請之美國申請案第11/141,344號及2004年11月5日申請之美國申請案第10/983,340號)。陰性對照組包括基於HERCEPTIN®(曲妥珠單抗)(抗-HER2)之共軛物(SMCC-DM1或SPP-DM1或MC-vc-MMAE或MC-vc-MMAF)。陽性對照組可包括等同於共軛物負荷劑量之游離L-DM1。使樣品渦旋以確保在稀釋之前混合物均勻。

適合於藥物共軛之抗-CD79b抗體包括本文所述之嵌合MA79b抗體(chMA79b)及huMA79b L2/H3抗體變異體及huMA79b.v17、huMA79b.v18、huMA79b.v28及huMA79b.v32(參見實例1)。適合於共軛之其他抗體可包括本文所述之任何抗體(參見實例1)。

實例3：活體內腫瘤細胞殺死檢定

A.異種移植物

為測試於HVR-L2及HVR-H3中具有變化之MA79b接枝 "人類化"抗體變異體的IgG變異體(huMA79b L2/H3)之功效，使huMA79b L2/H3變異體與DM1共軛且分析共軛變異體對小鼠腫瘤之效應。

具體而言，可檢驗抗體使多種異種移植模型中之腫瘤消退之能力，該等模型包括RAMOS細胞、BJAB細胞(含有t(2;8)(p112;q24)(IGK-MYC)易位、突變p53基因且為埃-巴二氏病毒(EBV)陰性之伯基特氏淋巴瘤細胞株)(Drexler, H.G., *The Leukemia-Lymphoma Cell Line Facts Book,* San Diego: Academic Press, 2001)、Granta 519細胞(含有導致過度表現細胞週期素D1(BCL1)之t(11;14)(q13;q32) (BCL1-IGH)易位、含有P16INK4B及P16INK4A缺失且為EBV陽性之套細胞淋巴瘤細胞株)(Drexler, H.G., *The Leukemia-Lymphoma Cell Line Facts Book,*

San Diego: Academic Press, 2001)、U698M細胞(淋巴母細胞性淋巴肉瘤B細胞株；Drexler, H.G., *The Leukemia-Lymphoma Cell Line Facts Book,* San Diego: Academic Press, 2001)及DoHH2細胞(含有導致過度表現由Ig重鏈驅動之Bcl-2之表示濾泡性淋巴瘤特徵的易位t(14;18)(q32;q21)、含有P16INK4A缺失、含有t(8;14)(q24;q32) (IGH-MYC)易位且為EBV陰性之濾泡性淋巴瘤細胞株)(Drexler, H.G., *The Leukemia-Lymphoma Cell Line Facts Book*, San Diego: Academic Press, 2001)。

為了分析MA79b接枝"人類化"抗體變異體之功效，對雌性CB17 ICR SCID小鼠(6-8週齡，來自Charles Rivers Laboratories；Hollister, CA)經由注入CB17 ICR SCID小鼠之側腹經皮下接種2×10^7個BJAB-螢光素酶細胞或Granta-519細胞且使異種移植腫瘤生長至平均200 mm^2。除非下文具體指示，否則第0天係指腫瘤平均為200 mm^2且當投與第一/或唯一治療劑量時之日期。根據式：$V=0.5a\times b^2$(其中a及b分別為腫瘤之長直徑及短直徑)，基於使用測徑規量測之兩個尺寸計算腫瘤體積，且以mm^3表示。自每一實驗組收集之資料係以平均值± SE表示。以介於50微克與210微克抗體連接藥物/平方公尺小鼠(相當於約1-4毫克/公斤小鼠)之間的單一靜脈注射(i.v.)劑量，用MA79b接枝"人類化"抗體變異體或對照抗體-藥物共軛物治療10隻小鼠之組。在整個實驗中每週一次或兩次量測腫瘤。在整個實驗中每週一次或兩次量測小鼠之體重。在腫瘤體積達到3000 mm^3之前或當腫瘤顯示近迫性潰瘍之徵象時對小鼠施以安樂死。所有動物方案均經機構動物照顧與使用委員會(Institutional Animal Care and Use Committee，IACUC)批准。

對於DM1而言，抗體與毒素之間所使用的連接子為硫醚交聯劑SMCC。其他連接子可包括二硫化物連接子SPP或硫醚交聯劑SMCC(對於DM1而言)或MC或MC-纈胺酸-瓜胺酸(vc)-PAB或具有順丁

烯二醯亞胺組分及對胺基苄基胺甲醯基(PAB)自我犧牲型組分之(纈胺酸-瓜胺酸(vc))二肽連接子試劑(對於單甲基奧瑞他汀E(MMAE)或單甲基奧瑞他汀F(MMAF)而言)。所用之毒素為DM1。其他毒素可包括MMAE或MMAF。

用於此實驗之CD79b抗體包括如2006年8月3日申請之美國申請案第11/462,336號中所述之嵌合MA79b(chMA79b)抗體以及本文所述之MA79b接枝"人類化"抗體變異體(參見實例1A)。其他抗體可包括市售抗體，包括抗-CD79b抗體及由1993年7月20日以HB11413寄存於ATCC之融合瘤產生之MA79b單株抗體。

陰性對照組包括基於抗-HER2(HERCEPTIN®(曲妥珠單抗))之共軛物(SMCC-DM1)。

B.結果

1. BJAB-螢光素酶異種移植物

就如表9中所示之藥物共軛物及劑量而言，在35天時程中，與DM1共軛之MA79b接枝"人類化"抗體變異體L2/H3(huMA79b L2/H3變異體)(重組為IgG)及嵌合抗-CD79b抗體(chMA79b)(分別為huMA79b L2/H3-SMCC-DM1及chMA79b-SMCC-DM1)顯示與陰性對照組HERCEPTIN®(曲妥珠單抗)-SMCC-DM1(抗-HER2-SMCC-DM1)相比具有BJAB-螢光素酶腫瘤之SCID小鼠之腫瘤生長得到抑制。對於所有ADC及對照組在第0天以單劑量投與ADC(如表9中所指示)。具體而言，huMA79b L2/H3-SMCC-DM1抗體(重組為IgG)及chMA79b-SMCC-DM1顯著抑制腫瘤生長(圖20)。此外，在表9中，指示所測試之小鼠總數中顯示PR=部分消退(其中投藥後任何時候之腫瘤體積下降至低於第0天時量測之腫瘤體積之50%)或CR=完全好轉(其中投藥後任何時候之腫瘤體積下降至0 mm^3)的小鼠數目。

表9

所投與之抗體(治療)	PR	CR	藥物-DM1劑量 ($\mu g/m^2$)	Ab劑量 (mg/kg)	藥物比率 (藥物/Ab)
對照組抗-HER2-SMCC-DM1	0/10	0/10	100	2	3.3
chMA79b-SMCC-DM1	3/10	3/10	100	2.4	2.9
chMA79b-SMCC-DM1	1/10	0/10	50	1.2	2.9
huMA79b L2/H3-SMCC-DM1	2/10	0/10	100	2.9	2.4
huMA79b L2/H3-SMCC-DM1	0/10	0/10	50	1.4	2.4

2. Granta-519異種移植物

就如表10中所示之藥物共軛物及劑量而言，在14天時程中，與DM1共軛之MA79b接枝"人類化"抗體變異體17、變異體18、變異體28及變異體32(分別為huMA79b.v17、huMA79b.v18、huMA79b.v28及huMA79b.v32)(重組為IgG)及嵌合抗-CD79b抗體(chMA79b)(分別為huMA79b.v17-SMCC-DM1、huMA79b.v18-SMCC-DM1、huMA79b.v28-SMCC-DM1、huMA79b.v32-SMCC-DM1及chMA79b-SMCC-DM1)顯示與陰性對照組HERCEPTIN®(曲妥珠單抗)-SMCC-DM1(抗-HER2-SMCC-DM1)相比具有Granta-519腫瘤之SCID小鼠之腫瘤生長得到抑制。對於所有ADC及對照組在第0天以單劑量投與ADC(如表10中所指示)。具體而言，huMA79b.v28-SMCC-DM1、huMA79b.v32-SMCC-DM1、huMA79b.v17-SMCC-DM1及huMA79b.v18-SMCC-DM1抗體(重組為IgG)及chMA79b-SMCC-DM1顯著抑制腫瘤生長(圖21A)。

此外，用huMA79b.v28-SMCC-DM1、huMA79b.v32-SMCC-DM1、huMA79b.v17-SMCC-DM1、huMA79b.v18-SMCC-DM1及chMA79b-SMCC-DM1及對照組HERCEPTIN®(曲妥珠單抗)-SMCC-DM1(抗-HER2-SMCC-DM1)之治療並不導致小鼠體重百分數之降低(圖21B)。更進一步地，在表10中，指示所測試之10隻小鼠總數中顯

示PR=部分消退(其中投藥後任何時候之腫瘤體積下降至低於第0天時量測之腫瘤體積之50%)或CR=完全好轉(其中投藥後任何時候之腫瘤體積下降至0 mm^3)的小鼠數目。

表10

所投與之抗體(治療)	PR	CR	藥物-DM1劑量 ($\mu g/m^2$)	Ab劑量 (mg/kg)	藥物比率 (藥物/Ab)
對照組抗-HER2-SMCC-DM1	0/10	0/10	208	4	3.4
chMA79b-SMCC-DM1	0/10	0/10	107	2	3.6
chMA79b-SMCC-DM1	1/10	0/10	213	4	3.6
huMA79b.v17-SMCC-DM1	0/10	0/10	202	4	3.4
huMA79b.v18-SMCC-DM1	4/10	0/10	196	4	3.3
huMA79b.v28-SMCC-DM1	0/10	0/10	101	2	3.4
huMA79b.v28-SMCC-DM1	2/10	2/10	202	4	3.4
huMA79b.v32-SMCC-DM1	0/10	0/10	172	4	2.9

根據MA79b接枝"人類化"抗體ADC顯著抑制異種移植物之腫瘤進展之能力，CD79b分子可為治療哺乳動物腫瘤之優良靶，該等腫瘤包括B細胞相關癌症，諸如淋巴瘤(亦即非霍奇金氏淋巴瘤)、白血病(亦即慢性淋巴細胞性白血病)及其他造血細胞之癌症。此外，MA79b接枝"人類化"ADC適用於降低腫瘤之活體內腫瘤生長，該等腫瘤包括B細胞相關癌症，諸如淋巴瘤(亦即非霍奇金氏淋巴瘤)、白血病(亦即慢性淋巴細胞性白血病)及其他造血細胞之癌症。

實例4：CD79b抗體共定位

為確定MA79b接枝"人類化"抗體及抗體變異體在內在化至細胞中後傳遞之部位，可在Ramos細胞株中評估內在化至B細胞株中之抗-CD79b抗體之共定位研究。LAMP-1為晚期內體及溶酶體(包括MHC II型隔室(MIIC)，其為晚期內體/溶酶體樣隔室)之標誌(Kleijmeer等人，*Journal of Cell Biology*, 139(3): 639-649 (1997)；Hunziker等人，*Bioessays*, 18:379-389 (1996)；Mellman等人，*Annu. Rev. Dev. Biology*,

12:575-625 (1996))。HLA-DM為MIIC之標誌。

於37℃下將Ramos細胞與1 μg/ml MA79b接枝"人類化"抗體及抗體變異體、FcR嵌段(Miltenyi)及25 μg/ml Alexa647-轉鐵蛋白(Molecular Probes)一起於完全無碳酸鹽培養基(Gibco)中在10 μg/ml亮抑蛋白酶肽(Roche)及5 μM抑胃肽(Roche)存在下培養3小時以抑制溶酶體降解。接著將細胞洗滌兩次，於室溫下用3%三聚甲醛(Electron Microscopy Sciences)固定20分鐘，用50 mM NH_4Cl(Sigma)中止，用0.4%皂苷/2% FBS/1% BSA滲透處理20分鐘且接著與1 μg/ml Cy3抗-小鼠(Jackson Immunoresearch)一起培養20分鐘。接著用小鼠IgG(Molecular Probes)將反應阻斷20分鐘，接著與Image-iT FX信號增強子(Molecular Probes)一起培養30分鐘。最後將細胞與Zenon Alexa488標記之小鼠抗-LAMP1(BD Pharmingen)(亦即一種溶酶體與MIIC(亦即為MHC II型路徑之部分的溶酶體樣隔室)之標誌)一起培養20分鐘，且用3% PFA進行後固定。將細胞再懸浮於20 μl皂苷緩衝劑中且使其黏附於塗有聚-離胺酸(Sigma)之載片，隨後以含有DAPI之VectaShield(Vector Laboratories)安上蓋片。對於MIIC或溶酶體之免疫螢光而言，將細胞如上固定、滲透處理及增強，接著按照製造商之說明書(Molecular Probes)在過量小鼠IgG存在下與Zenon標記之Alexa555-HLA-DM(BD Pharmingen)及Alexa488-Lamp1共染色。

因此，如藉由免疫螢光所評估，MA79b接枝"人類化"抗體或抗體變異體與B細胞株之MIIC或溶酶體之共定位可指示分子作為治療哺乳動物腫瘤之優良藥劑，該等腫瘤包括B細胞相關癌症，諸如淋巴瘤(亦即非霍奇金氏淋巴瘤)、白血病(亦即慢性淋巴細胞性白血病)及其他造血細胞之癌症。

實例5：半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體之製備

如本文所揭示執行半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體之製備。

藉由本文所揭示之方法誘發編碼MA79b抗體(輕鏈，SEQ ID NO: 4，圖4；及重鏈，SEQ ID NO: 5，圖5)之DNA突變以修飾輕鏈及重鏈。亦可藉由本文所揭示之方法誘發編碼MA79b抗體(重鏈，SEQ ID NO: 5；圖5)之DNA突變以修飾重鏈之Fc區。

藉由本文所揭示之方法誘發編碼huMA79b.v17抗體(重鏈，SEQ ID NO: 304，圖15)之DNA突變以修飾重鏈。亦可藉由本文所揭示之方法誘發編碼huMA79b.v17抗體(輕鏈，SEQ ID NO: 303；圖15；及重鏈，SEQ ID NO: 304；圖15)之DNA突變以修飾輕鏈或重鏈之Fc區。

藉由本文所揭示之方法誘發編碼huMA79b.v18抗體(重鏈，SEQ ID NO: 306，圖16)之DNA突變以修飾重鏈。亦可藉由本文所揭示之方法誘發編碼huMA79b.v18抗體(輕鏈，SEQ ID NO: 305；圖16；及重鏈，SEQ ID NO: 306；圖16)之DNA突變以修飾輕鏈或重鏈之Fc區。

藉由本文所揭示之方法誘發編碼huMA79b.v28抗體(重鏈，SEQ ID NO: 308，圖17)之DNA突變以修飾重鏈。亦可藉由本文所揭示之方法誘發編碼huMA79b.v28抗體(輕鏈，SEQ ID NO: 307，圖17；及重鏈，SEQ ID NO : 308，圖17)之DNA突變以修飾輕鏈或重鏈之Fc區。

可藉由本文所揭示之方法誘發編碼huMA79b.v32抗體(輕鏈，SEQ ID NO: 310，圖18；及重鏈，SEQ ID NO: 309，圖18)之DNA突變以修飾輕鏈及重鏈。

藉由本文所揭示之方法誘發編碼抗-cyno CD79b抗體(輕鏈，SEQ ID NO : 241；圖45；及重鏈，SEQ ID NO: 243，圖47)之DNA突變以修飾輕鏈及重鏈。亦可藉由本文所揭示之方法誘發編碼抗-cyno CD79b抗體(重鏈，SEQ ID NO: 243，圖47)之DNA突變以修飾重鏈之Fc區。

在半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體之製備中，誘發編碼輕鏈之DNA突變以如圖27(MA79b thioMAb之輕鏈SEQ ID NO: 235)及圖

49(thioMAb抗-cyno CD79b (ch10D10)之輕鏈SEQ ID NO: 300)中所示用半胱胺酸取代輕鏈中Kabat位置205(依序位置209)處之纈胺酸。誘發編碼重鏈之DNA突變以如圖48(thioMAb抗-cyno CD79b (ch10D10)抗體之重鏈SEQ ID NO: 244)、圖28(MA79b thioMAb之重鏈SEQ ID NO: 236)、圖24(thioMAb huMA79b.v17之重鏈SEQ ID NO: 228)、圖25(thioMAb huMA79b.v18之重鏈SEQ ID NO: 230)及圖26(thioMAb huMA79b.v28之重鏈SEQ ID NO: 232)中所示用半胱胺酸取代重鏈中EU位置118(依序位置118；Kabat編號114)處之丙胺酸。可誘發抗-CD79b抗體之Fc區突變以如表2-4中所示用半胱胺酸取代重鏈Fc區中EU位置400(依序位置400；Kabat編號396)處之絲胺酸。

A.藉由還原及再氧化來製備用於共軛之半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體

使全長、半胱胺酸工程化抗-CD79b單株抗體(ThioMab)表現於CHO細胞中且以蛋白質A親和層析接著尺寸排阻層析進行純化。將經純化之抗體於500 mM硼酸鈉及500 mM氯化鈉(約pH 8.0)中複配且於37℃下用約50-100倍莫耳過量之1 mM TCEP(鹽酸參(2-羧基乙基)膦；Getz等人(1999) Anal. Biochem.第273卷：73-80；Soltec Ventures, Beverly, MA)還原歷時約1-2小時。將經還原之ThioMab稀釋且以10 mM乙酸鈉(pH 5)裝載於HiTrap S管柱上，且用含有0.3 M氯化鈉之PBS溶離。於室溫下用2 mM脫氫抗壞血酸(dhAA)(pH 7)或2 mM硫酸銅($CuSO_4$)水溶液將經溶離還原之ThioMab處理3小時隔夜。周圍空氣氧化亦可為有效的。藉由經由葡聚糖凝膠G25樹脂溶離來交換緩衝劑且用具有1 mM DTPA之PBS進行溶離。藉由根據溶液於280 nm下之吸光度來測定還原抗體濃度且藉由與DTNB(Aldrich, Milwaukee, WI)反應並測定於412 nm下之吸光度來測定硫醇濃度，從而估算硫醇/Ab值。

實例6：藉由半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體與藥物-連接子中間物之

共軛來製備半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體藥物共軛物

在實例5之還原及再氧化程序後，將半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體於PBS(磷酸鹽緩衝生理食鹽水)緩衝液中複配且於冰上冷卻。將相對於每抗體之工程化半胱胺酸約1.5莫耳當量之具有硫醇反應性官能基(諸如順丁烯二醯亞胺基)的奧瑞他汀藥物連接子中間物(諸如MC-MMAE(順丁烯二醯亞胺基己醯基-單甲基奧瑞他汀E)、MC-MMAF 、MC-val-cit-PAB-MMAE或MC-val-cit-PAB-MMAF)溶解於DMSO中，稀釋於乙腈及水中，且添加至於PBS中之經冷卻還原、再氧化之抗體中。在約一小時後，添加過量順丁烯二醯亞胺以中止反應且將任何未反應之抗體硫醇基封端。藉由離心超濾濃縮反應混合物且將半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體藥物共軛物純化並藉由以PBS經由G25樹脂溶離來脫鹽，在無菌條件下經由0.2 μm過濾器過濾，並冷凍儲存。

如下執行huMA79b.v18-HC(A118C) thioMAb-BMPEO-DM1之製備。藉由雙-順丁烯二醯亞胺基試劑BM(PEO)3 (Pierce Chemical)修飾huMA79b.v18-HC(A118C) thioMAb上之游離半胱胺酸，從而於抗體表面上留下未反應之順丁烯二醯亞胺基。此係藉由將BM(PEO)3溶解於50%乙醇/水混合物中至10 mM之濃度且將十倍莫耳過量之BM(PEO)3添加至含有huMA79b.v18-HC(A118C) thioMAb於磷酸鹽緩衝生理食鹽水中之溶液(濃度為約1.6 mg/ml(10微莫耳))中且使其反應1小時來實現。藉由凝膠過濾(HiTrap管柱，Pharmacia)以30 mM檸檬酸鹽(pH 6)及150 mM NaCl緩衝劑移除過量BM(PEO)3。將溶解於二甲基乙醯胺(DMA)中之約10倍莫耳過量DM1添加至huMA79b.v18-HC(A118C) thioMAb-BMPEO中間物中。亦可利用二甲基甲醯胺(DMF)溶解藥物部分試劑。使反應混合物反應隔夜，隨後凝膠過濾或透析至PBS中以移除未反應之藥物。使用以PBS於S200管柱上之凝膠過濾來移除高分子量聚集體且提供經純化之huMA79b.v18-HC(A118C) thioMAb-

BMPEO-DM1。

藉由相同方案，產生thio對照組hu-抗-HER2-HC (A118C)-BMPEO-DM1、thio對照組hu-抗-HER2-HC (A118C)-MC-MMAF、thio對照組hu-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE及thio對照組抗-CD22-HC(A118C)-MC-MMAF。

藉由上述程序，製備及測試下列半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體藥物共軛物(TDC)：

1.藉由A118C thio huMA79b.v18-HC(A118C)與MC-MMAF之共軛得到之thio huMA79b.v18-HC(A118C)-MC-MMAF；

2.藉由A118C thio huMA79b.v18-HC(A118C)與BMPEO-DM1之共軛得到之thio huMA79b.v18-HC(A118C)-BMPEO-DM1；

3.藉由A118C thio huMA79b.v18-HC(A118C)與MC-val-cit-PAB-MMAE之共軛得到之thio huMA79b.v18-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE；

4.藉由A118C thio huMA79b.v28-HC(A118C)與MC-MMAF之共軛得到之thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF；

5.藉由thio huMA79b.v28-HC(A118C)與BMPEO-DM1之共軛得到之thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1；

6.藉由thio huMA79b.v28-HC(A118C)與MC-val-cit-PAB-MMAE之共軛得到之thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-val-cit-PAB-MMAE；

7.藉由A118C thio抗-cynoCD79b (ch10D10)-HC(A118C)與MC-MMAF之共軛得到之thio抗-cynoCD79b (ch10D10)-HC(A118C)-MC-MMAF；

8.藉由A118C thio抗-cynoCD79b (ch10D10)-HC(A118C)與BMPEO-DM1之共軛得到之thio抗-cynoCD79b (ch10D10)-HC(A118C)-BMPEO-DM1；

9.藉由A118C thio抗-cynoCD79b (ch10D10)-HC(A118C)與MC-val-cit-PAB-MMAE之共軛得到之thio抗-cynoCD79b (ch10D10)-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE；

10.藉由thio MA79b-HC(A118C)與MC-MMAF之共軛得到之thio MA79b-HC(A118C)-MC-MMAF；

11.藉由thio MA79b-LC(V205C)與MC-MMAF之共軛得到之thio MA79b-LC(V205C)-MC-MMAF。

實例7：半胱胺酸工程化ThioMAb藥物共軛物與細胞表面抗原之結合親和力的表徵

藉由FACS分析測定thio huMA79b.v18、thio huMA79b.v28藥物共軛物及thio MA79b藥物共軛物與表現於BJAB-螢光素酶細胞上之CD79b之結合親和力。此外，藉由FACS分析測定thio抗cynoCD79b(ch10D10)藥物共軛物與表現於表現cynoCD79b之BJAB細胞上之CD79b的結合親和力。

簡言之，使100 μl之約1×10^6個細胞與不同量(每百萬細胞之BJAB-螢光素酶細胞或表現cynoCD79b之BJAB細胞(對於抗-cynoCD79b thioMAb而言)為1.0 μg、0.1 μg或 0.01 μg之Ab)的下列抗-CD79b thioMAb藥物共軛物或裸物質(未共軛之Ab作為對照組)中之一者接觸：(1) thio MA79b-LC(V205C)-MC-MMAF或(2) thio MA79b-HC(A118C)-MC-MMAF(分別為圖29A-B)；(3) thio huMA79b.v18-HC(A118C)-MC-MMAF、(4) thio huMA79b.v18-HC(A118C)-MC-vcPAB-MMAE或(5) thio huMA79b.v18-HC(A118C)-BMPEO-DM1(分別為圖30B-D)；(6) thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE、(7) thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1或(8) thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF(分別參見圖31B-31D)；或(9) thio抗-cynoCDb79(ch10D10)-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE、(10) thio抗-

cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)-BMPEO-DM1 或 (11) thio 抗 -cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)-MC-MMAF(分別參見圖32B-32D)。使用PE共軛之小鼠抗-人類Ig作為第二偵測抗體(BD目錄號555787)。

使用PE共軛之小鼠抗-人類Ig偵測結合於細胞表面之抗-CD79b抗體。圖29-32之圖指示抗原結合對於所有所測試之thioMAb藥物共軛物而言近乎相同。

實例8：關於藉由抗-CD79b ThioMab藥物共軛物活體外降低細胞增生之檢定

藉由細胞增生檢定(圖41A，BJAB-螢光素酶；圖41B，Granta-519；圖41C，WSU-DLCL2)量測抗-CD79b ThioMAb-藥物共軛物(包括 thio huMA79b.v18-HC(A118C)-MCMMAF、thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE 及 thio huMA79b.v18-HC(A118C)-BMPEO-DM1)之活體外效能。CellTiter-Glo®發光細胞存活力檢定為基於鞘翅目(*Coleoptera*)螢光素酶之重組表現之市售(Promega Corp., Madison, WI)均質檢定方法(US 5583024；US 5674713；US 5700670)。此細胞增生檢定基於所存在之ATP之量化來測定培養物中活細胞之數目，ATP為代謝活性細胞之指示物(Crouch等人，*J. Immunol. Metho.*, 160: 81-88 (1993)；US 6602677)。以96孔形式進行CellTiter-Glo®，使其能執行自動高產量篩選(HTS)(Cree等人，*AntiCancer Drugs*, 6:398-404 (1995))。均質檢定程序涉及直接將單一試劑(CellTiter-Glo®試劑)添加至培養於補給血清之培養基中之細胞中。

均質"添加-混合-量測"形式導致細胞溶解且產生與所存在之ATP之量成比例的發光信號。藉由重組螢火蟲螢光素酶使受質甲蟲螢光素氧化脫羧基，同時伴隨ATP轉化為AMP且產生光子。以相對發光單位(RLU)反映活細胞。可藉由光度計或CCD攝影成像裝置記錄資料。將

發光輸出表示為RLU，其係隨時間測得。將%RLU標準化為與"非藥物-共軛物"對照組相比之RLU百分數。或者，可用閃爍計數器在閃爍體存在下對來自發光之光子計數。接著可以CPS(每秒計數)表示光單位。

藉由細胞增生檢定，利用以下自CellTiter Glo發光細胞存活力檢定(Promega Corp. Technical bulletin TB288；Mendoza等人，Cancer Res., 62: 5485-5488 (2002))修改之方案來量測thioMAb-藥物共軛物之功效：

1.使40 μl於培養基中含有約3000個BJAB、Granta-519或WSU-DLCL2細胞之細胞培養物的等分試樣沈積於384孔、不透明壁板之各孔中。

2.將TDC(ThioMab藥物共軛物)(10 μl)添加至(一式四份)實驗孔中至10000 ng/mL、3333 ng/mL、1111 ng/mL、370 ng/mL、123 ng/mL、41 ng/mL、13.7 ng/mL、4.6 ng/mL或1.5 ng/mL之最終濃度，其中"非藥物共軛物"對照孔僅接受培養基，且加以培養3天。

3.將該等板平衡至室溫歷時約30分鐘。

4.添加CellTiter-Glo試劑(50 μl)。

5.將內含物用軌道震盪器混合2分鐘以誘導細胞溶胞。

6.將板於室溫下培養10分鐘以使發光信號穩定。

7.記錄發光且以%RLU(相對發光單位)報導於圖中。於0.51 ng/mL下將來自用無藥物-共軛物培養基培養之細胞之資料繪圖。

培養基：BJAB、Granta-519及WSU-DLCL2細胞生長於RPMI1640/10% FBS/2 mM麩醯胺酸中。

實例9：關於抗-CD79b ThioMab藥物共軛物活體內抑制腫瘤生長之檢定

A. Granta-519(人類套細胞淋巴瘤)

在類似研究中，使用與實例3中所揭示相同之異種移植研究方案(參見上文)，改變所投與之藥物共軛物及劑量，研究thioMAb藥物共軛物對於CB17 SCID小鼠之Granta-519異種移植物(人類套細胞淋巴瘤)之功效。藥物共軛物及劑量(對於所有ADC及對照組在第0天投與)在下文表11中展示。

對照組Ab為hu-抗-HER2-MC-MMAF或MA79b-MC-MMAF。對照組HC(A118C) thioMAb為thio hu-抗-HER2-HC(A118C)-MMAF thioMAb。結果在表11及圖33中展示。

圖33A為描繪用重鏈A118C或輕鏈V205C抗-CD79b TDC以如圖11中所示之劑量治療之CB17 SCID小鼠的Granta-519異種移植物中之平均腫瘤體積隨時間之變化的圖。具體而言，投與thio chMA79b-HC(A118C)-MC-MMAF及thio chMA79b-LC(V205C)-MC-MMAF顯示與陰性對照組(抗-hu-HER2-MC-MMAF及thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF)相比腫瘤生長得到抑制。其他對照組包括MA79b-MC-MMAF。

此外，在同一研究中，對每一劑量組測定頭14天之體重變化百分數。結果(圖33B)指示投與此等thioMAb藥物共軛物在此時間內並未導致體重百分數顯著降低或重量減輕。

更進一步地，在表11中，指示所測試之小鼠總數中顯示PR=部分消退(其中投藥後任何時候之腫瘤體積下降至低於第0天時量測之腫瘤體積之50%)或CR=完全好轉(其中投藥後任何時候之腫瘤體積下降至0 mm^3)的小鼠數目且NA=不適用。(DAR=藥物與抗體比率)

表11

活體內腫瘤體積減小，

Thio chMA79b-HC(A118C)或thio chMA79b-LC(V205C) MMAF共軛物投藥

在CB17 SCID小鼠之Granta-519異種移植物中

所投與之抗體	PR	CR	MMAF劑量 ($\mu g/m^2$)	Ab劑量 (mg/kg)	DAR (藥物/Ab)
對照組hu-抗-HER2-MC-MMAF	0/8	0/8	413	6.8	4.0
Thio對照組hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF	0/9	0/9	191	6.8	1.85
對照組chMA79b-MC-MMAF	1/8	0/8	100	2.3	3.0
對照組chMA79b-MC-MMAF	8/9	1/9	300	6.8	3.0
Thio chMA79b-HC(A118C)-MC-MMAF	0/8	0/8	63	2.3	1.9
Thio chMA79b-HC(A118C)-MC-MMAF	4/9	0/9	190	6.8	1.9
Thio chMA79b-LC(V205C)-MC-MMAF	0/8	0/8	60	2.3	1.8
Thio chMA79b-LC(V205C)-MC-MMAF	5/9	4/9	180	6.8	1.8

B. BJAB-螢光素酶(伯基特氏淋巴瘤)異種移植物

在類似研究中，使用與實例3中所揭示相同之異種移植研究方案(參見上文)，改變所投與之藥物共軛物及劑量，測試其他藥物共軛物對於CB17 SCID小鼠之BJAB-螢光素酶異種移植物(伯基特氏淋巴瘤)之功效。藥物共軛物及劑量(對於所有ADC及對照組在第0天投與)在下文表12中展示。

對照組抗體為huMA79b.v28(與SMCC-DM1共軛)。對照組HC(A118C) thioMAb為thio hu-抗-HER2-HC(A118C)抗體thioMAb(與BMPEO-DM1、MC-MMAF或MCvcPAB-MMAE共軛)、thio huMA79b.v28-HC(A118C) thioMAb或thio hu-抗-CD22(10F4v3)-HC(A118C) thioMAb(與MC-MMAF共軛)。結果在下文表12及圖34中展示。

圖34A為描繪如表12中所示用huMA79b.v28-HC(A118C) thioMAb藥物共軛物治療之CB17 SCID小鼠之BJAB-螢光素酶異種移植物中的平均腫瘤體積隨時間之變化的圖。具體而言，投與thio huMA79b.v28-

HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF及thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE thioMAb藥物共軛物顯示與陰性對照組抗體藥物共軛物(thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF及thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE)相比腫瘤生長得到抑制。其他對照組為thio-huMA79b.v28-HC(A118C)、huMA79b.v28-SMCC-DM1及thio-hu-抗-CD22(10F4v3)-HC(A118C)-MC-MMAF。

此外，在同一研究中，對每一劑量組測定頭7天之體重變化百分數。結果(圖34B)指示投與此等thioMAb藥物共軛物在此時間內並未引起體重百分數顯著降低或重量減輕。

更進一步地，在表12中，指示所測試之小鼠總數中顯示PR=部分消退(其中投藥後任何時候之腫瘤體積下降至低於第0天時量測之腫瘤體積之50%)或CR=完全好轉(其中投藥後任何時候之腫瘤體積下降至0 mm^3)的小鼠數目且NA=不適用。(DAR=藥物與抗體比率)

表12

活體內腫瘤體積減小，

Thio HuMA79b.v28-HC(A118C) MMAE、MMAF及DM1共軛物投藥

在CB17 SCID小鼠之BJAB-螢光素酶異種移植物中

所投與之抗體	PR	CR	MMAF、MMAE或DM1劑量 ($\mu g/m^2$)	Ab劑量 (mg/kg)	DAR (藥物/Ab)
Thio 對照組 hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1	0/10	0/10	57	2	1.86
Thio 對照組 hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF	1/10	0/10	58	2	1.9
Thio 對照組 hu-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE	0/10	0/10	46	2	1.55

對照組huMA79b.v28-SMCC-DM1	2/10	3/10	101	2	3.4
Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1	3/10	2/10	55	2	1.85
Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF	0/10	10/10	57	2	1.95
Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE	0/10	10/10	54	2	1.87
Thio 對照組 huMA79b.v28-HC(A118C)	0/10	0/10	NA	2	NA
Thio對照組hu-抗-CD22(10F4v3)-HC(A118C)-MC-MMAF	1/10	4/10	59	2	1.96

C. WSU-DLCL2(彌漫性大細胞淋巴瘤)異種移植物

在類似研究中，使用與實例3中所揭示相同之異種移植研究方案(參見上文)，改變所投與之藥物共軛物及劑量，研究thioMAb藥物共軛物對於CB17 SCID小鼠之濾泡性淋巴瘤WSU-DLCL2異種移植物(彌漫性大細胞淋巴瘤)之功效。藥物共軛物及劑量在下文表13中展示。

對照組抗體為huMA79b.v28(與SMCC-DM1共軛)。對照組HC(A118C) thioMAb為thio hu-抗-HER2-HC(A118C)抗體thioMAb(與BMPEO-DM1、MC-MMAF或MCvcPAB-MMAE共軛)、thio huMA79b.v28-HC(A118C) thioMAb或thio抗-CD22 10F4v3-HC(A118C) thioMAb(與MC-MMAF共軛)。結果在下文表13中展示。

圖35A為描繪用重鏈A118C抗-CD79b TDC以如表13中所示之劑量治療之CB17 SCID小鼠的WSU-DLCL2(彌漫性大細胞淋巴瘤)異種移植物中之平均腫瘤體積隨時間之變化的圖。具體而言，投與thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF及thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE顯示與陰性對照組(thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF、thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE、thio-huMA79b.v28-HC(A118C))相比

腫瘤生長得到抑制。其他對照組包括thio-huMA79b.v28-HC(A118C)、huMA79b.v28-SMCC-DM1 及 thio hu-抗-CD22(10F4v3)-HC(A118C)-MC-MMAF。

thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE TDC顯現在此研究之測試藥劑中最有效。

此外，在同一研究中，對每一劑量組測定頭7天之體重變化百分數。結果(圖35B)指示投與此等thioMAb藥物共軛物在此時間內並未引起體重百分數顯著降低或重量減輕。

更進一步地，在表13中，指示所測試之小鼠總數中顯示PR=部分消退(其中投藥後任何時候之腫瘤體積下降至低於第0天時量測之腫瘤體積之50%)或CR=完全好轉(其中投藥後任何時候之腫瘤體積下降至0 mm^3)的小鼠數目且NA=不適用。(DAR=藥物與抗體比率)

表13

活體內腫瘤體積減小，

Thio HuMA79b.v28-HC(A118C) MMAE、MMAF及DM1共軛物投藥

在CB17 SCID小鼠之WSU-DLCL2異種移植物中

所投與之抗體	PR	CR	MMAF、MMAE或DM1劑量 ($\mu g/m^2$)	Ab劑量 (mg/kg)	DAR (藥物/Ab)
Thio對照組hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1	0/10	0/10	114	4	1.86
Thio對照組hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF	0/10	0/10	115	4	1.9
Thio對照組hu-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE	0/10	0/10	92	4	1.55
對照組huMA79b.v28-SMCC-DM1	1/10	0/10	202	4	3.4
Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-	0/10	0/10	110	4	1.85

BMPEO-DM1					
Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF	3/10	1/10	115	4	1.95
Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE	4/10	3/10	108	4	1.87
Thio對照組huMA79b.v28-HC(A118C)	0/10	0/10	NA	4	NA
Thio 對照組 10F4v3-HC(A118C)-MC-MMAF	1/10	0/10	118	4	1.96
Thio對照組huMA79b.v28-HC(A118C)	0/10	0/10	NA	4	NA

D. DOHH2(濾泡性淋巴瘤)異種移植物

在類似研究中，使用與實例3中所揭示相同之異種移植研究方案(參見上文)，改變所投與之藥物共軛物及劑量，研究thioMAb藥物共軛物減小CB17 SCID小鼠之DOHH2異種移植模型中之B細胞腫瘤體積的能力。藥物共軛物及劑量(對於所有ADC及對照組在第0天投與)在下文表14中展示。

對照組Ab為huMA79b.v28(與SMCC-DM1共軛)。對照組HC(A118C) thioMAb為thio hu-抗-HER2-HC(A118C) thioMAb(與BMPEO-DM1、MC-MMAF或MCvcPAB-MMAE共軛)、thio huMA79b.v28-HC(A118C) thioMab及thio hu-抗-CD22-HC(A118C)(與MC-MMAF共軛)。結果在表14及圖36中展示。

圖36A為描繪用重鏈A118C TDC以如表14中所示之劑量治療之CB17 SCID小鼠的DOHH2細胞異種移植物中之平均腫瘤體積隨時間之變化的圖。具體而言，以表14中所示之劑量投與thio huMA79b.v28-HC-(A118C)-BMPEO-DM1、thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF及thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE thioMAb藥物共軛物顯示與陰性對照組藥物共軛物(Thio對照組hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1、Thio對照組hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF、Thio對照組hu-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE)相比

腫瘤生長得到抑制。其他對照組包括Thio對照組huMA79b.v28-HC(A118C)、Thio對照組抗-CD22-HC(A118C)-MC-MMAF及Thio對照組huMA79b.v28-HC(A118C)及對照組huMA79b.v28-SMCC-DM1。

更進一步地，在表14中，指示所測試之小鼠總數中顯示PR=部分消退(其中投藥後任何時候之腫瘤體積下降至低於第0天時量測之腫瘤體積之50%)或CR=完全好轉(其中投藥後任何時候之腫瘤體積下降至0 mm^3)的小鼠數目且NA=不適用。(DAR=藥物與抗體比率)

表14

活體內腫瘤體積減小，

Thio HuMA79b.v28-HC(A118C) DM1、MMAF及MMAE共軛物投藥

在CB17 SCID小鼠之DOHH2異種移植物中

所投與之抗體	PR	CR	MMAF或DM1劑量 ($\mu g/m^2$)	Ab劑量 (mg/kg)	DAR (藥物/Ab)
Thio對照組hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1	0/9	0/9	114	4	1.86
Thio對照組hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF	0/9	0/9	115	4	1.9
Thio對照組hu-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE	0/9	0/9	92	4	1.55
對照組huMA79b.v28-SMCC-DM1	1/8	1/8	202	4	3.4
Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1	1/9	1/9	110	4	1.85
Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF	5/9	4/9	115	4	1.95
Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE	0/9	9/9	108	4	1.87
Thio對照組huMA79b.v28-HC(A118C)	1/9	0/9	NA	4	NA
Thio對照組抗-CD22-HC(A118C)-MC-MMAF	0/9	0/9	118	4	1.96

E. BJAB-螢光素酶(伯基特氏淋巴瘤)異種移植物

在類似研究中，使用與實例3中所揭示相同之異種移植研究方案，改變所投與之抗體藥物共軛物及劑量，研究藥物共軛物對於CB17 SCID小鼠之BJAB-螢光素酶(伯基特氏淋巴瘤)異種移植物之功效。藥物共軛物及劑量(對於所有ADC及對照組在第0天投與)在下文表15中展示。

對照組抗體為媒劑(單獨緩衝劑(對於ADC))。對照組HC (A118C) thioMAb為thio hu-抗-HER2-HC(A118C)抗體thioMAb(與BMPEO-DM1、MCvcPAB-MMAE或MC-MMAF共軛)、thio huMA79b.v28-HC(A118C) thioMAb或thio抗-CD22 10F4v3-HC(A118C) thioMAb(與MC-MMAF共軛)。結果在下文表15中展示。

圖37A為描繪用重鏈A118C抗-CD79b TDC以如表15中所示之劑量治療之CB17 SCID小鼠的BJAB-螢光素酶異種移植物中之平均腫瘤體積隨時間之變化的圖。具體而言，投與thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE及thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF顯示與陰性對照組(thio-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE、thio-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF)相比腫瘤生長得到抑制。其他對照組包括thio huMA79b.v28-HC(A118C)及thio-10F4v3-HC(A118C)-MC-MMAF。

更進一步地，在表15中，指示所測試之小鼠總數中顯示PR=部分消退(其中投藥後任何時候之腫瘤體積下降至低於第0天時量測之腫瘤體積之50%)或CR=完全好轉(其中投藥後任何時候之腫瘤體積下降至0 mm^3)的小鼠數目且NA=不適用。(DAR=藥物與抗體比率)

表15

活體內腫瘤體積減小，

Thio HuMA79b.v28-HC(A118C) MMAE、MMAF及DM1共軛物投藥

在CB17 SCID小鼠之BJAB-螢光素酶異種移植物中

所投與之抗體	PR	CR	MMAF、MMAE或DM1劑量 ($\mu g/m^2$)	Ab劑量 (mg/kg)	DAR (藥物/Ab)
對照組媒劑	0/10	0/10	NA	NA	NA
Thio 對照組 hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1	0/10	1/10	57	2	1.86
Thio 對照組 hu-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE	0/10	0/10	23	1	1.55
Thio對照組hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF	0/10	0/10	29	1	1.9
Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1	2/10	0/10	27	1	1.85
Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1	4/10	0/10	55	2	1.85
Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE	4/10	1/10	27	1	1.9
Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF	3/8	1/8	28	1	1.9
Thio對照組huMA79b.v28-HC(A118C)	0/10	0/10	NA	1	NA
Thio 對照組 10F4v3-HC(A118C)-MC-MMAF	0/10	1/10	30	1	1.96

F. Granta-519(人類套細胞淋巴瘤)異種移植物

在類似研究中，使用與實例3中所揭示相同之異種移植研究方案(參見上文)，改變所投與之藥物共軛物及劑量，研究thioMAb藥物共軛物對於CB17 SCID小鼠之Granta-519異種移植物(人類套細胞淋巴瘤)之功效。藥物共軛物及劑量(對於所有ADC及對照組在第0天投與)在下文表16中展示。

對照組 HC(A118C) thioMAb 為 thio hu-抗-HER2-HC(A118C)

thioMAb(與BMPEO-DM1或MC-MMAF共軛)。結果在表16及圖38中展示。

圖38A為描繪用重鏈A118C抗-CD79b TDC以如表16中所示之劑量治療之CB17 SCID小鼠的Granta 519異種移植物中之平均腫瘤體積隨時間之變化的圖。具體而言，以表16中所示之劑量投與thio huMA79b.v28-HC-(A118C)-BMPEO-DM1 及 thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF thioMAb藥物共軛物顯示與對照組藥物共軛物相比腫瘤生長得到抑制。

此外，在同一研究中，對每一劑量組測定頭14天之體重變化百分數。結果(圖38B)指示投與此等thioMAb藥物共軛物在此時間內並未導致體重百分數降低或引起重量減輕。

在表16中，指示所測試之小鼠總數中顯示PR=部分消退(其中投藥後任何時候之腫瘤體積下降至低於第0天時量測之腫瘤體積之50%)或CR=完全好轉(其中投藥後任何時候之腫瘤體積下降至0 mm^3)的小鼠數目。(DAR=藥物與抗體比率)

表16

活體內腫瘤體積減小，

Thio HuMA79b.v28-HC(A118C) DM1及MMAF共軛物投藥

在CB17 SCID小鼠之Granta-519異種移植物中

所投與之抗體	PR	CR	MMAF或DM1劑量 ($\mu g/m^2$)	Ab劑量 (mg/kg)	DAR (藥物/Ab)
Thio 對照組 hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1	0/8	0/8	342	12	1.86
Thio 對照組 hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF	0/8	0/8	346	12	1.9
Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1	0/6	0/6	55	2	1.85

Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1	0/8	0/8	110	4	1.85
Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1	4/8	4/8	219	8	1.85
Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1	3/8	5/8	329	12	1.85
Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF	1/8	1/8	57	2	1.95
Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF	2/8	1/8	115	4	1.95
Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF	6/8	2/8	229	8	1.95
Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF	4/8	4/8	344	12	1.95

G. WSU-DLCL2(彌漫性大細胞淋巴瘤)異種移植物

在類似研究中，使用與實例3中所揭示相同之異種移植研究方案(參見上文)，改變所投與之藥物共軛物及劑量，研究thioMAb藥物共軛物對於CB17 SCID小鼠之WSU-DLCL2異種移植物(彌漫性大細胞淋巴瘤)之功效。藥物共軛物及劑量(對於所有ADC及對照組在第0天投與)在下文表17中展示。

對照組抗體為媒劑(單獨緩衝劑(對於ADC))。對照組thio MAb為thio hu-抗-HER2-HC(A118C)抗體thioMAb(與BMPEO-DM1、MCvcPAB-MMAE或MC-MMAF共軛)。結果在表17及圖39中展示。

圖39為描繪用重鏈A118C抗-CD79b TDC以如表17中所示之劑量治療之CB17 SCID小鼠的WSU-DLCL2異種移植物中之平均腫瘤體積隨時間之變化的圖。具體而言，投與thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF及thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE(Ab劑量為0.5 mg/kg、1.0 mg/kg、2.0 mg/kg及4.0 mg/kg)顯示與陰性對照組(thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio-hu-抗-HER2-HC (A118C)-MCvcPAB-MMAE、thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF及A-媒劑)相比腫瘤

生長得到抑制。

更進一步地，在表17中，指示所測試之小鼠總數中顯示PR=部分消退(其中投藥後任何時候之腫瘤體積下降至低於第0天時量測之腫瘤體積之50%)或CR=完全好轉(其中投藥後任何時候之腫瘤體積下降至0 mm^3)的小鼠數目且NA=不適用。(DAR=藥物與抗體比率)

表17

活體內腫瘤體積減小，

Thio HuMA79b.v28-HC(A118C) MMAE、MMAF及DM1共軛物投藥

在CB17 SCID小鼠之WSU-DLCL2異種移植物中

所投與之抗體	PR	CR	MMAF、MMAE或DM1劑量 ($\mu g/m^2$)	Ab劑量 (mg/kg)	DAR (藥物/Ab)
對照組媒劑	0/9	0/9	NA	NA	NA
Thio 對照組 hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1	0/9	0/9	114	4	1.86
Thio 對照組 hu-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE	0/9	0/9	92	4	1.55
Thio對照組hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF	0/9	0/9	115	4	1.9
Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF	5/9	2/9	112	4	1.9
Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1	4/9	0/9	110	4	1.85
Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE	1/9	0/9	14	0.5	1.9
Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE	0/9	0/9	27	1.0	1.9
Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE	2/9	1/9	55	2.0	1.9
Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE	1/9	7/9	110	4.0	1.9

H. Granta-519(人類套細胞淋巴瘤)異種移植物

在類似研究中，使用與實例3中所揭示相同之異種移植研究方案(參見上文)，改變所投與之藥物共軛物及劑量，研究thioMAb藥物共軛物對於CB17 SCID小鼠之Granta-519異種移植物(人類套細胞淋巴瘤)之功效。藥物共軛物及劑量(對於所有ADC及對照組在第0天投與)在下文表18中展示。

對照組thio MAb為thio hu-抗-HER2-HC(A118C)(與BMPEO-DM1共軛)及thio hu-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE抗體thioMAb。結果在下文表18中展示。

圖40A為描繪用重鏈A118C抗-CD79b TDC以如表18中所示之劑量治療之CB17 SCID小鼠的Granta-519異種移植物中之平均腫瘤體積隨時間之變化的圖。具體而言，投與thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1及thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE(Ab劑量為1.0 mg/kg、2.0 mg/kg及4.0 mg/kg)顯示與陰性對照組(thio-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1及thio-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE)相比腫瘤生長得到抑制。

更進一步地，在表18中，指示所測試之小鼠總數中顯示PR=部分消退(其中投藥後任何時候之腫瘤體積下降至低於第0天時量測之腫瘤體積之50%)或CR=完全好轉(其中投藥後任何時候之腫瘤體積下降至0 mm^3)的小鼠數目且NA=不適用。(DAR=藥物與抗體比率)

表18

活體內腫瘤體積減小，

Thio HuMA79b.v28-HC(A118C) DM1及MMAF共軛物投藥

在CB17 SCID小鼠之Granta-519異種移植物中

所投與之抗體	PR	CR	MMAF、MMAE或DM1劑量($\mu g/m^2$)	Ab劑量(mg/kg)	DAR(藥物/Ab)
Thio對照組hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1	0/10	0/10	114	4	1.86
Thio對照組hu-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE	2/10	1/10	92	4	1.55
Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1	3/10	0/10	110	4	1.85
Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE	0/10	1/10	13	0.5	1.87
Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE	1/10	0/10	27	1.0	1.87
Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE	1/10	7/10	54	2.0	1.87
Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE	0/10	10/10	108	4.0	1.87

I. BJAB-cynoCD79b異種移植物

在類似研究中，使用與實例3中所揭示相同之異種移植研究方案(參見上文)，改變所投與之藥物共軛物及劑量，研究thioMAb藥物共軛物對於CB17 SCID小鼠之表現cynoCD79b(BJAB-cynoCD79b)異種移植物之BJAB(伯基特氏淋巴瘤)細胞的功效。藥物共軛物及劑量(對於所有ADC及對照組在第0天投與)在下文表18中展示。

對照組Ab為媒劑(單獨緩衝劑)。對照組thio MAb為thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF及thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE抗體thioMAb。結果在表19及圖50中展示。

圖50為描繪用重鏈A118C抗-CD79b TDC以如表19中所示之劑量治療之CB17 SCID小鼠的BJAB-cynoCD79b異種移植物中之腫瘤生長隨時間之抑制的圖。具體而言，投與thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE及thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF以及thio-抗-cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio-抗-cynoCD79b(ch10D10)-

HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE 及 thio- 抗 -cynoCD79b (ch10D10)-HC(A118C)-MC-MMAF顯示與陰性對照組(thio-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio-抗-HER2-HC (A118C)-MCvcPAB-MMAE及thio-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF及A-媒劑)相比腫瘤生長得到抑制。

更進一步地，在表19中，指示所測試之小鼠總數中顯示PR=部分消退(其中投藥後任何時候之腫瘤體積下降至低於第0天時量測之腫瘤體積之50%)或CR=完全好轉(其中投藥後任何時候之腫瘤體積下降至0 mm^3)的小鼠數目且NA=不適用。(DAR=藥物與抗體比率)

表19

活體內腫瘤體積減小，

Thio 抗 -cyno CD79b(ch10D10)-HC(A118C) DM1 、 MMAF 或 MMAE或Thio HuMA79b.v28 DM1、MMAF或MMAE共軛物投藥

在CB17 SCID小鼠之BJAB-cynoCD79b異種移植物中

所投與之抗體	PR	CR	MMAF、MMAE或DM1劑量 ($\mu g/m^2$)	Ab劑量 (mg/kg)	DAR (藥物/Ab)
對照組媒劑	0/9	0/9	NA	NA	NA
Thio 對照組 hu- 抗 -HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1	0/9	0/9	57	2	1.86
Thio 對照組 hu- 抗 -HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE	0/9	0/9	23	1	1.55
Thio 對照組 hu- 抗 -HER2-HC(A118C)-MC-MMAF	0/9	0/9	29	1	1.9
Thio 抗 -cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)-BMPEO-DM1	3/8	1/8	53	2	1.8
Thio 抗 -cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE	1/9	2/9	27	1	1.86
Thio 抗 -cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)-MC-MMAF	0/9	1/9	28	1	1.9

Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1	3/9	0/9	55	2	1.85
Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE	2/9	2/9	27	1	1.9
Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF	7/9	1/9	28	1	1.9

J. BJAB-cynoCD79b異種移植物

在類似研究中，使用與實例3中所揭示相同之異種移植研究方案(參見上文)，改變所投與之藥物共軛物及劑量，研究thioMAb藥物共軛物對於CB17 SCID小鼠之表現cynoCD79b(BJAB cynoCD79b)異種移植物之BJAB(伯基特氏淋巴瘤)的功效。藥物共軛物及劑量(對於所有ADC及對照組在第0天投與)在下文表19中展示。

對照組thio MAb為thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio-huMA79b.v28-HC(A118C) 及 thio- 抗 -cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)抗體thioMAb。結果在表20及圖51中展示。

圖51為描繪用重鏈A118C抗-CD79b TDC以如表20中所示之劑量治療之CB17 SCID小鼠的BJAB-cynoCD79b異種移植物中之腫瘤生長隨時間之抑制的圖。具體而言，投與thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1 及 thio- 抗 -cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)-BMPEO-DM1顯示與陰性對照組(thio-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1)相比腫瘤生長得到抑制。其他對照組包括thio-hu-MA79b.v28-HC(A118C)及thio-抗-cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)。

結果在下文表20中展示。在表20中，指示所測試之小鼠總數中顯示PR=部分消退(其中投藥後任何時候之腫瘤體積下降至低於第0天時量測之腫瘤體積之50%)或CR=完全好轉(其中投藥後任何時候之腫瘤體積下降至0 mm^3)的小鼠數目且NA=不適用。(DAR=藥物與抗體比率)

表20

活體內腫瘤體積減小，

Thio 抗 -cyno CD79b(ch10D10)-HC(A118C) DM1 或 Thio HuMA79b.v28-HC(A118C) DM1共軛物投藥

在CB17 SCID小鼠之BJAB-cynoCD79b異種移植物中

所投與之抗體	PR	CR	MMAF、MMAE或DM1劑量 ($\mu g/m^2$)	Ab劑量 (mg/kg)	DAR (藥物/Ab)
Thio對照組hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1	0/10	0/10	57	2	1.86
Thio對照組huMA79b.v28-HC(A118C)	0/10	0/10	NA	2	NA
Thio對照組抗-cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)	0/10	0/10	NA	2	NA
Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1	1/10	0/10	27	1	1.85
Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1	0/10	2/10	55	2	1.85
Thio 抗 -cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)-BMPEO-DM1	0/10	0/10	27	1	1.8
Thio 抗 -cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)-BMPEO-DM1	0/10	1/10	53	2	1.8

應認為，上文所寫之說明書足以使熟習此項技術者能夠實施本發明。本發明在範疇上不限於寄存構建物，此係因為寄存實施例意欲作為本發明之某些態樣之單一說明且功能等效之任何構建物均屬於本發明之範疇內。本文中物質之寄存並未構成對本文中含有之所寫描述不足以使本發明之任何態樣(包括其最佳方式)之實施成為可能的承認，亦不視為使申請專利範圍之範疇受限於其所體現之特定示例。實際上，除本文所述及所示之彼等者外的本發明之多種修改根據上文描述對於熟習此項技術者將變得顯而易見且屬於附申請專利範圍之範疇內。

【符號說明】

無

【序列表】

<110> 美商建南德克公司

<120> 抗-CD79B 抗體及免疫共軛物及使用方法

<130> P511R1

<140> 098101259
<141> 2009-01-14

<150> US 61/025,137
<151> 2008-01-31

<150> US 61/032,790
<151> 2008-02-29

<150> US 61/054,709
<151> 2008-05-20

<160> 310

<210> 1
<211> 1270
<212> DNA
<213> 智人

<400> 1
caggggacag gctgcagccg gtgcagttac acgttttcct ccaaggagcc 50

tcggacgttg tcacgggttt ggggtcgggg acagagcagt gaccatggcc 100

aggctggcgt tgtctcctgt gcccagccac tggatggtgg cgttgctgct 150

gctgctctca gctgagccag taccagcagc cagatcggag gaccggtacc 200

ggaatcccaa aggtagtgct tgttcgcgga tctggcagag cccacgtttc 250

atagccagga aacggggctt cacggtgaaa atgcactgct acatgaacag 300

cgcctccggc aatgtgagct ggctctggaa gcaggagatg gacgagaatc 350

cccagcagct gaagctggaa aagggccgca tggaagagtc ccagaacgaa 400

tctctcgcca ccctcaccat ccaaggcatc cggtttgagg acaatggcat 450

ctacttctgt cagcagaagt gcaacaacac ctcggaggtc taccagggct 500

gcggcacaga gctgcgagtc atgggattca gcaccttggc acagctgaag 550

cagaggaaca cgctgaagga tggtatcatc atgatccaga cgctgctgat 600

catcctcttc atcatcgtgc ctatcttcct gctgctggac aaggatgaca 650

gcaaggctgg catggaggaa gatcacacct acgagggcct ggacattgac 700

cagacagcca cctatgagga catagtgacg ctgcggacag gggaagtgaa 750

gtggtctgta ggtgagcacc caggccagga gtgagagcca ggtcgcccca 800

tgacctgggt gcaggctccc tggcctcagt gactgcttcg gagctgcctg 850

gctcatggcc caaccccttt cctggacccc ccagctggcc tctgaagctg 900

gcccaccaga gctgccattt gtctccagcc cctggtcccc agctcttgcc 950

aaagggcctg gagtagaagg acaacagggc agcaacttgg agggagttct 1000

ctggggatgg acgggaccca gccttctggg ggtgctatga ggtgatccgt 1050

ccccacacat gggatggggg aggcagagac tggtccagag cccgcaaatg 1100

gactcggagc cgagggcctc ccagcagagc ttgggaaggg ccatggaccc 1150

aactgggccc cagaagagcc acaggaacat cattcctctc ccgcaaccac 1200

tcccacccca gggaggccct ggcctccagt gccttccccc gtggaataaa 1250

cggtgtgtcc tgagaaacca 1270

<210> 2
<211> 229
<212> PRT
<213> 智人

<400> 2

Met	Ala	Arg	Leu	Ala	Leu	Ser	Pro	Val	Pro	Ser	His	Trp	Met	Val
1				5				10						15
Ala	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Ser	Ala	Glu	Pro	Val	Pro	Ala	Ala	Arg
				20				25						30
Ser	Glu	Asp	Arg	Tyr	Arg	Asn	Pro	Lys	Gly	Ser	Ala	Cys	Ser	Arg
				35				40						45
Ile	Trp	Gln	Ser	Pro	Arg	Phe	Ile	Ala	Arg	Lys	Arg	Gly	Phe	Thr
				50				55						60
Val	Lys	Met	His	Cys	Tyr	Met	Asn	Ser	Ala	Ser	Gly	Asn	Val	Ser
				65				70						75
Trp	Leu	Trp	Lys	Gln	Glu	Met	Asp	Glu	Asn	Pro	Gln	Gln	Leu	Lys
				80				85						90
Leu	Glu	Lys	Gly	Arg	Met	Glu	Glu	Ser	Gln	Asn	Glu	Ser	Leu	Ala
				95				100						105
Thr	Leu	Thr	Ile	Gln	Gly	Ile	Arg	Phe	Glu	Asp	Asn	Gly	Ile	Tyr
				110				115						120
Phe	Cys	Gln	Gln	Lys	Cys	Asn	Asn	Thr	Ser	Glu	Val	Tyr	Gln	Gly
				125				130						135
Cys	Gly	Thr	Glu	Leu	Arg	Val	Met	Gly	Phe	Ser	Thr	Leu	Ala	Gln
				140				145						150
Leu	Lys	Gln	Arg	Asn	Thr	Leu	Lys	Asp	Gly	Ile	Ile	Met	Ile	Gln
				155				160						165
Thr	Leu	Leu	Ile	Ile	Leu	Phe	Ile	Ile	Val	Pro	Ile	Phe	Leu	Leu
				170				175						180
Leu	Asp	Lys	Asp	Asp	Ser	Lys	Ala	Gly	Met	Glu	Glu	Asp	His	Thr
				185				190						195
Tyr	Glu	Gly	Leu	Asp	Ile	Asp	Gln	Thr	Ala	Thr	Tyr	Glu	Asp	Ile
				200				205						210
Val	Thr	Leu	Arg	Thr	Gly	Glu	Val	Lys	Trp	Ser	Val	Gly	Glu	His
				215				220						225

Pro Gly Gln Glu

<210> 3
<211> 929
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 嵌合抗體（chMA79b）之輕鏈

<400> 3
cactcccagc tccaactgca cctcggttct atcgattgaa ttccaccatg 50

ggatggtcat gtatcatcct ttttctagta gcaactgcaa ctggagtaca 100

ttcagatatc gtgctgaccc aatctccagc ttctttggct gtgtctctgg 150

ggcagagggc caccatctcc tgcaaggcca gccaaagtgt tgattatgat 200

ggtgatagtt ttttgaactg gtaccaacag aaaccaggac agccacccaa 250

actcttcatc tatgctgcat ccaatctaga atctgggatc ccagccaggt 300

ttagtggcag tgggtctggg acagacttca ccctcaacat ccatcctgtg 350

gaggaggagg atgctgcaac ctattactgt cagcaaagta atgaggatcc 400

gctcacgttc ggggcaggca ccgagctgga actcaaacgg accgtggctg 450

caccatctgt cttcatcttc ccgccatctg atgagcagtt gaaatctgga 500

actgcctctg ttgtgtgcct gctgaataac ttctatccca gagaggccaa 550

agtacagtgg aaggtggata acgccctcca atcgggtaac tcccaggaga 600

gtgtcacaga gcaggacagc aaggacagca cctacagcct cagcagcacc 650

ctgacgctga gcaaagcaga ctacgagaaa cacaaagtct acgcctgcga 700

agtcacccat cagggcctga gctcgcccgt cacaaagagc ttcaacaggg 750

gagagtgtta agcttggccg ccatggccca acttgtttat tgcagcttat 800

aatggttaca ataaaagcaa tagcatcaca aatttcacaa ataaagcatt 850

ttttcactg cattctagtt gtggtttgtc caaactcatc aatgtatctt 900

atcatgtctg gatcgggaat taattcggc 929

<210> 4
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 嵌合抗體（chMA79b）之輕鏈

<400> 4
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu
1 5 10 15

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

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

Gln Pro Pro Lys Leu Phe Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser
50 55 60

Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
65 70 75

Thr Leu Asn Ile His Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr
80 85 90

Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly
95 100 105

Thr Glu Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe
110 115 120

Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser
125 130 135

Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val
140 145 150

Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
155 160 165

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
170 175 180

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
185 190 195

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
200 205 210

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
215

<210> 5
<211> 1469
<212> DNA
<213>人工序列

<220>
<223>嵌合抗體（chMA79b）之重鏈

<400> 5
tcggttctat cgattgaatt ccaccatggg atggtcatgt atcatccttt 50

ttctagtagc aactgcaact ggagtacatt cagaagttca gctgcagcag 100

tctggggctg aactgatgaa gcctggggcc tcagtgaaga tatcctgcaa 150

ggctactggc tacacattca gtagttactg gatagagtgg gtaaagcaga 200

ggcctggaca tggccttgag tggattggag agattttacc tggaggtggt 250

gatactaact acaatgagat tttcaagggc aaggccacat tcactgcaga 300

tacatcctcc aacacagcct acatgcaact cagcagcctg acatctgagg 350

actctgccgt ctattactgt acaagacgag taccggttta ctttgactac 400

tggggccaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcctcca ccaagggccc 450

atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct gggggcacag 500

cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 550

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt 600

cctacagtcc tcaggactct actccctcag cagcgtggtg actgtgccct 650

ctagcagctt gggcacccag acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc 700

agcaacacca aggtggacaa gaaagttgag cccaaatctt gtgacaaaac 750

tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga actcctgggg ggaccgtcag 800

tcttcctctt ccccccaaaa cccaaggaca ccctcatgat ctcccggacc 850

cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt 900

caagttcaac tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa 950

agccgcggga ggagcagtac aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc 1000

accgtcctgc accaggactg gctgaatggc aaggagtaca agtgcaaggt 1050

ctccaacaaa gccctcccag ccccatcga gaaaaccatc tccaaagcca 1100

aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca ccctgccccc atcccgggaa 1150

gagatgacca agaaccaggt cagcctgacc tgcctggtca aaggcttcta 1200

tcccagcgac atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca 1250

actacaagac cacgcctccc gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc 1300

tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg tggcagcagg ggaacgtctt 1350

ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac acgcagaaga 1400

gcctctccct gtctccgggt aaatgagtgc gacggcccta gagtcgacct 1450

gcagaagctt ggccgccat 1469

<210> 6
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 嵌合抗體（chMA79b）之重鏈

<400> 6

Glu	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Leu	Met	Lys	Pro	Gly	
1				5				10						15	
Ala	Ser	Val	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Ala	Thr	Gly	Tyr	Thr	Phe	Ser	
				20				25						30	
Ser	Tyr	Trp	Ile	Glu	Trp	Val	Lys	Gln	Arg	Pro	Gly	His	Gly	Leu	
				35				40						45	
Glu	Trp	Ile	Gly	Glu	Ile	Leu	Pro	Gly	Gly	Gly	Asp	Thr	Asn	Tyr	
				50				55						60	
Asn	Glu	Ile	Phe	Lys	Gly	Lys	Ala	Thr	Phe	Thr	Ala	Asp	Thr	Ser	
				65				70						75	
Ser	Asn	Thr	Ala	Tyr	Met	Gln	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	
				80				85						90	
Ser	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Thr	Arg	Arg	Val	Pro	Val	Tyr	Phe	Asp	
				95				100						105	
Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	
				110				115						120	
Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	
				125				130						135	
Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	
				140				145						150	
Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	
				155				160						165	
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	
				170				175						180	
Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	
				185				190						195	
Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	
				200				205						210	
Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	
				215				220						225	
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	
				230				235						240	
Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	
				245				250						255	
Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	
				260				265						270	

```
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
                275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
                290                 295                 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                305                 310                 315

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
                320                 325                 330

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
                335                 340                 345

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
                350                 355                 360

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
                365                 370                 375

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
                380                 385                 390

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
                395                 400                 405

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
                410                 415                 420

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
                425                 430                 435

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
                440                 445
```

<210> 7
<211> 231
<212> PRT
<213> 食蟹猴

<400> 7

```
Met Ala Arg Leu Ala Leu Ser Pro Val Ser Ser His Trp Leu Val
  1               5                  10                  15

Ala Leu Leu Leu Leu Leu Ser Ala Ala Glu Pro Val Pro Ala Ala
                20                  25                  30

Lys Ser Glu Asp Leu Tyr Pro Asn Pro Lys Gly Ser Ala Cys Ser
                35                  40                  45

Arg Ile Trp Gln Ser Pro Arg Phe Ile Ala Arg Lys Arg Gly Phe
                50                  55                  60

Thr Val Lys Met His Cys Tyr Val Thr Asn Ser Thr Phe Ser Ile
                65                  70                  75

Val Ser Trp Leu Arg Lys Arg Glu Thr Asp Lys Glu Pro Gln Gln
                80                  85                  90

Val Asn Leu Glu Gln Gly His Met His Gln Thr Gln Asn Ser Ser
                95                 100                 105

Val Thr Thr Leu Ile Ile Gln Asp Ile Arg Phe Glu Asp Asn Gly
                110                115                 120

Ile Tyr Phe Cys Gln Gln Glu Cys Ser Lys Thr Ser Glu Val Tyr
                125                130                 135

Arg Gly Cys Gly Thr Glu Leu Arg Val Met Gly Phe Ser Thr Leu
                140                145                 150

Ala Gln Leu Lys Gln Arg Asn Thr Leu Lys Asp Gly Ile Ile Met
                155                160                 165
```

Ile Gln Thr Leu Leu Ile Ile Leu Phe Ile Ile Val Pro Ile Phe
170 175 180

Leu Leu Leu Asp Lys Asp Asp Ser Lys Ala Gly Met Glu Ala Asp
185 190 195

His Thr Tyr Glu Gly Leu Asp Ile Asp Gln Thr Ala Thr Tyr Glu
200 205 210

Asp Ile Val Thr Leu Arg Thr Gly Glu Val Lys Trp Ser Val Gly
215 220 225

Glu His Pro Gly Gln Glu
230

<210> 8
<211> 228
<212> PRT
<213>小家鼠

<400> 8
Met Ala Thr Leu Val Leu Ser Ser Met Pro Cys His Trp Leu Leu
1 5 10 15

Phe Leu Leu Leu Leu Phe Ser Gly Glu Pro Val Pro Ala Met Thr
20 25 30

Ser Ser Asp Leu Pro Leu Asn Phe Gln Gly Ser Pro Cys Ser Gln
35 40 45

Ile Trp Gln His Pro Arg Phe Ala Ala Lys Lys Arg Ser Ser Met
50 55 60

Val Lys Phe His Cys Tyr Thr Asn His Ser Gly Ala Leu Thr Trp
65 70 75

Phe Arg Lys Arg Gly Ser Gln Gln Pro Gln Glu Leu Val Ser Glu
80 85 90

Glu Gly Arg Ile Val Gln Thr Gln Asn Gly Ser Val Tyr Thr Leu
95 100 105

Thr Ile Gln Asn Ile Gln Tyr Glu Asp Asn Gly Ile Tyr Phe Cys
110 115 120

Lys Gln Lys Cys Asp Ser Ala Asn His Asn Val Thr Asp Ser Cys
125 130 135

Gly Thr Glu Leu Leu Val Leu Gly Phe Ser Thr Leu Asp Gln Leu
140 145 150

Lys Arg Arg Asn Thr Leu Lys Asp Gly Ile Ile Leu Ile Gln Thr
155 160 165

Leu Leu Ile Ile Leu Phe Ile Ile Val Pro Ile Phe Leu Leu Leu
170 175 180

Asp Lys Asp Asp Gly Lys Ala Gly Met Glu Glu Asp His Thr Tyr
185 190 195

Glu Gly Leu Asn Ile Asp Gln Thr Ala Thr Tyr Glu Asp Ile Val
200 205 210

Thr Leu Arg Thr Gly Glu Val Lys Trp Ser Val Gly Glu His Pro
215 220 225

Gly Gln Glu

<210> 9
<211> 108
<212> PRT
<213>智人

<400> 9

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

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

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

Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
             50                  55                  60

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

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
             80                  85                  90

Tyr Asn Ser Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu
             95                 100                 105

Ile Lys Arg
```

<210> 10
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 嵌合抗體（chMA79b）之輕鏈之可變域

<400> 10

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

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

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

Pro Pro Lys Leu Phe Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly
             50                  55                  60

Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
             65                  70                  75

Leu Asn Ile His Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr
             80                  85                  90

Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr
             95                 100                 105

Glu Leu Glu Leu Lys Arg
            110
```

<210> 11
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體接枝物（huMA79b接枝物）之輕鏈之可變域

<400> 11

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

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

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

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser
50 55 60

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
65 70 75

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr
80 85 90

Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly
95 100 105

Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
110

<210> 12
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 12
Ala Arg Ser Glu Asp Arg Tyr Arg Asn Pro Lys
5 10

<210> 13
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

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

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

Ser Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
35 40 45

Glu Trp Val Ser Val Ile Ser Gly Asp Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr
50 55 60

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

Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
80 85 90

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
95 100 105

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
110

<210> 14
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 嵌合抗體（chMA79b）之重鏈之可變域

<400> 14
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Met Lys Pro Gly
1 5 10 15

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

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

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

Asn Glu Ile Phe Lys Gly Lys Ala Thr Phe Thr Ala Asp Thr Ser
65 70 75

Ser Asn Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp
80 85 90

Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg Arg Val Pro Val Tyr Phe Asp
95 100 105

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
110 115

<210> 15
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體接枝物（huMA79b接枝物）之重鏈之可變域

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

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

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

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

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

Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
80 85 90

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg Arg Val Pro Val Tyr Phe Asp
95 100 105

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
110 115

<210> 16
<211> 16
<212> PRT
<213> 智人

<400> 16
Ala Arg Ser Glu Asp Arg Tyr Arg Asn Pro Lys Gly Ser Ala Cys
1 5 10 15

Lys

<210> 17
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 17
Lys Ala Ser Lys Ser Val Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Phe Leu Asn
1 5 10 15

<210> 18
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人類化抗體變異體

<400> 18
Ala Ala Ser Asn Arg Glu Ser
5

<210> 19
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 19
Ala Ala Ser Asn Leu Lys Ser
5

<210> 20
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 20
Gln Gln Ser Asn Ser Asp Pro Leu Thr
5

<210> 21
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 21
Gln Gln Ser Asn Lys Asp Pro Leu Thr
5

<210> 22
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 22
Ala Ala Arg Lys Leu Gly Arg
5

<210> 23
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 23
Ala Ala Ser Arg Leu Glu Ser
5

<210> 24
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 24

Ala Ala Arg Lys Leu Gly Asn
5

<210> 25
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 25
Ala Ala Arg Lys Leu Lys Arg
5

<210> 26
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 26
Ala Ala Arg Tyr Leu Lys Arg
5

<210> 27
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 27
Ala Ala Arg Lys Leu Lys Ser
5

<210> 28
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 28
Ala Ala Arg Lys Leu Ala Ser
5

<210> 29
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 29
Ala Ala Gly Ile Leu Ala Arg
5

<210> 30
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 30
Ala Ala Arg Lys Leu Arg Ser
5

<210> 31
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 31
Ala Ala Arg Lys Leu Gly Ser
5

<210> 32
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 32
Ala Ala Arg His Leu Lys Arg
5

<210> 33
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 33
Ala Ser Arg Tyr Leu Ser Arg
5

<210> 34
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 34
Ala Gly Ser Lys Leu Leu Arg
5

<210> 35
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 35
Ala Ala Ser Asn Arg Lys Ser
5

<210> 36
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 36
Ala Ala Ser Lys Leu Gly Ser
5

<210> 37
<211> 7
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 37
Ala Ala Arg Tyr Leu Arg Arg
5

<210> 38
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 38
Ala Ala Arg Arg Leu Arg Thr
5

<210> 39
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 39
Ala Ala Arg Arg Leu Gly Arg
5

<210> 40
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 40
Ala Ala Arg Gln Arg Lys Arg
5

<210> 41
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 41
Ala Ala Arg Lys Leu Leu Arg
5

<210> 42
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 42
Ala Ala Arg Lys Leu Lys Asn
5

<210> 43
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人類化抗體變異體

<400> 43
Ala Ala Arg Lys Leu Gly Thr
5

<210> 44
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 44
Ala Ala Arg Lys Leu Gly Gly
5

<210> 45
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 45
Ala Ala Arg Lys Leu Ala Arg
5

<210> 46
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 46
Gln Gln Ser Asn Ala Asp Pro Leu Thr
5

<210> 47
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 47
Gln Gln Ser Asn Gln Asp Pro Leu Thr
5

<210> 48
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 48
Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Leu Thr
5

<210> 49
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 49

Gln Gln Ser Asn Asp Asp Pro Leu Thr
5

<210> 50
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 50
Gln Gln Ser Asn Leu Asp Pro Leu Thr
5

<210> 51
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 51
Asn Asn Ser Asn Gly Asp Pro Leu Asn
5

<210> 52
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 52
Gln Pro Asp Asn Glu Ala Pro Arg Thr
5

<210> 53
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 53
Asp Gln Arg Asn Ala Asp Pro Leu Thr
5

<210> 54
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 54
Gly Tyr Pro Phe Thr Arg Tyr Trp Ile Ser
5 10

<210> 55
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 55
Gly Tyr Pro Phe Arg Ser Tyr Trp Ile Gln
5 10

<210> 56
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 56
Gly Tyr Pro Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Asn
5 10

<210> 57
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 57
Gly Tyr Pro Phe Thr Arg Tyr Trp Ile Asn
5 10

<210> 58
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 58
Gly Tyr Thr Phe Asn Arg Tyr Trp Ile Asn
5 10

<210> 59
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 59
Gly Tyr Ser Phe Lys Ser Tyr Trp Ile Glu
5 10

<210> 60
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 60
Pro Tyr Ser Leu Cys Thr Tyr Phe Ile Asp
5 10

<210> 61
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 61
Gly Tyr Tyr Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Glu
5 10

<210> 62
<211> 10
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 62
Gly Tyr Pro Phe Gly Arg Tyr Trp Val Asn
5 10

<210> 63
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 63
Gly Tyr Thr Phe Lys Lys Tyr Trp Ile Glu
5 10

<210> 64
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 64
Gly Tyr Pro Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Gln
5 10

<210> 65
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 65
Gly Tyr Pro Phe Arg Arg Tyr Trp Ile Glu
5 10

<210> 66
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 66
Gly Tyr Pro Val Gly Arg Tyr Trp Ile Ser
5 10

<210> 67
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 67
Gly Tyr Pro Phe Asn Arg Tyr Trp Ile Asn
5 10

<210> 68
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人類化抗體變異體

<400> 68
Gly Tyr Gly Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Ser
5 10

<210> 69
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 69
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Leu Ser
5 10

<210> 70
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 70
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Glu
5 10

<210> 71
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 71
Gly Tyr Thr Phe Ser Gly Tyr Trp Ile Asn
5 10

<210> 72
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列係合成的

<400> 72
Gly Tyr Thr Phe Arg Arg Tyr Trp Ile Asn
5 10

<210> 73
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 73
Gly Tyr Ser Phe Arg Ser Tyr Trp Ile Asn
5 10

<210> 74
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 74

Gly Tyr Ser Phe Arg Arg Tyr Trp Ile Asn
5 10

<210> 75
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 75
Gly Tyr Ser Phe Arg Arg Tyr Trp Ile Glu
5 10

<210> 76
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 76
Gly Tyr Ser Phe Pro Ser Tyr Trp Leu Gln
5 10

<210> 77
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 77
Gly Tyr Pro Phe Thr Arg Tyr Trp Ile Glu
5 10

<210> 78
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 78
Gly Tyr Pro Phe Ser Gly Tyr Trp Ile Glu
5 10

<210> 79
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 79
Gly Tyr Pro Phe Arg Ser Tyr Trp Ile Ser
5 10

<210> 80
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 80
Gly Tyr Pro Phe Arg Ser Tyr Trp Ile Asn
5 10

<210> 81
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 81
Gly Tyr Pro Phe Arg Gly Tyr Trp Ile Glu
5 10

<210> 82
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 82
Gly Tyr Pro Phe Asn Arg Tyr Trp Ile Glu
5 10

<210> 83
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 83
Gly Tyr Pro Phe Asn Gly Tyr Trp Ile Asn
5 10

<210> 84
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 84
Gly Tyr Asn Val Ser Ser Tyr Trp Leu Ser
5 10

<210> 85
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 85
Gly Phe Pro Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Ser
5 10

<210> 86
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 86
Gly Phe Pro Phe Asn Arg Tyr Trp Ile Asn
5 10

<210> 87
<211> 10
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 87
Cys Thr Arg Arg Val Pro Ile Tyr Leu Asp
5 10

<210> 88
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 88
Cys Thr Arg Arg Val Pro Val Tyr Phe Asp
5 10

<210> 89
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 89
Cys Thr Arg Arg Val Pro Val Lys Leu Asp
5 10

<210> 90
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 90
Cys Thr Arg Arg Val Pro Val Tyr Leu Asp
5 10

<210> 91
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 91
Cys Thr Arg Arg Val Pro Ile Tyr Phe Asp
5 10

<210> 92
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 92
Cys Thr Arg Arg Val Pro Phe Cys Leu Asp
5 10

<210> 93
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人類化抗體變異體

<400> 93
Cys Thr Arg Arg Val Pro Val Tyr Leu Asp
5 10

<210> 94
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 94
Cys Thr Arg Arg Val Pro Ile Arg Leu Asp
5 10

<210> 95
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 95
Cys Thr Arg Arg Val Pro Ile Lys Leu Asp
5 10

<210> 96
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 96
Cys Thr Arg Arg Val Pro Ile Arg Phe Asp
5 10

<210> 97
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 97
Cys Thr Arg Arg Val Pro Ile Tyr Phe Asp
5 10

<210> 98
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 98
Cys Thr Arg Arg Val Pro Val Tyr Phe Ser
5 10

<210> 99
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 99

Cys Thr Arg Arg Val Pro Val Val Leu Asp
5 10

<210> 100
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 100
Cys Thr Arg Arg Val Pro Val Arg Leu Asp
5 10

<210> 101
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 101
Cys Thr Arg Arg Val Pro Val Arg Phe Asp
5 10

<210> 102
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 102
Cys Thr Arg Arg Val Pro Val Phe Leu Asp
5 10

<210> 103
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 103
Cys Thr Arg Arg Val Pro Ile Tyr Leu Asp
5 10

<210> 104
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 104
Cys Thr Arg Arg Val Pro Ile Tyr Phe Asp
5 10

<210> 105
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 105
Cys Thr Arg Arg Arg Pro Val Cys Leu Asp
5 10

<210> 106
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體

<400> 106
Cys Thr Arg Arg Ile Pro Val Tyr Phe Asp
5 10

<210> 107
<211> 10
<212> PRT
<213> 小家鼠

<400> 107
Cys Thr Arg Arg Val Pro Val Tyr Phe Asp
5 10

<210> 108
<211> 87
<212> PRT
<213> 智人

<400> 108
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly
1 5 10 15

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

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

Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu
50 55 60

Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
65 70 75

Arg Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
80 85

<210> 109
<211> 81
<212> PRT
<213> 智人

<400> 109
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly
1 5 10 15

Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Trp Val Arg Gln Ala
20 25 30

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

Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser
50 55 60

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Gly Gln Gly Thr
65 70 75

Leu Val Thr Val Ser Ser
80

<210> 110
<211> 80
<212> PRT
<213> 智人

<400> 110

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

Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Trp Val Arg Gln Ala
20 25 30

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

Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser
50 55 60

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu
65 70 75

Val Thr Val Ser Ser
80

<210> 111
<211> 79
<212> PRT
<213> 智人

<400> 111
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly
1 5 10 15

Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Trp Val Arg Gln Ala
20 25 30

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

Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser
50 55 60

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
65 70 75

Thr Val Ser Ser

<210> 112
<211> 86
<212> PRT
<213> 智人

<400> 112
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser
1 5 10 15

Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Val Ser
20 25 30

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

Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu
50 55 60

Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
65 70 75

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
80 85

<210> 113
<211> 81
<212> PRT
<213> 智人

<400> 113
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser
1 5 10 15

Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro
20 25 30

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Arg Val Thr Ile Ser Val Asp
35 40 45

Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala
50 55 60

Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Gly Gln Gly Thr
65 70 75

Leu Val Thr Val Ser Ser
80

<210> 114
<211> 80
<212> PRT
<213> 智人

<400> 114
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser
1 5 10 15

Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro
20 25 30

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Arg Val Thr Ile Ser Val Asp
35 40 45

Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala
50 55 60

Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu
65 70 75

Val Thr Val Ser Ser
80

<210> 115
<211> 79
<212> PRT
<213> 智人

<400> 115
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser
1 5 10 15

Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro
20 25 30

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Arg Val Thr Ile Ser Val Asp
35 40 45

Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala
50 55 60

Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
65 70 75

Thr Val Ser Ser

<210> 116
<211> 87
<212> PRT
<213> 智人

<400> 116
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
1 5 10 15

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

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

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
50 55 60

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
65 70 75

Arg Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
80 85

<210> 117
<211> 81
<212> PRT
<213> 智人

<400> 117
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
1 5 10 15

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Trp Val Arg Gln Ala
20 25 30

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
35 40 45

Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala
50 55 60

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Gly Gln Gly Thr
65 70 75

Leu Val Thr Val Ser Ser
80

<210> 118
<211> 80
<212> PRT
<213> 智人

<400> 118
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
1 5 10 15

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Trp Val Arg Gln Ala
20 25 30

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
35 40 45

Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala
50 55 60

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu
65 70 75

Val Thr Val Ser Ser
80

<210> 119
<211> 79
<212> PRT
<213> 智人

<400> 119
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
1 5 10 15

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Trp Val Arg Gln Ala
20 25 30

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
35 40 45

Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala
50 55 60

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
65 70 75

Thr Val Ser Ser

<210> 120
<211> 87
<212> PRT
<213> 智人

<400> 120
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
1 5 10 15

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys
20 25 30

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

Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
50 55 60

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser
65 70 75

Arg Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
80 85

<210> 121
<211> 81
<212> PRT
<213> 智人

<400> 121
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
1 5 10 15

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Trp Val Arg Gln Ala
20 25 30

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp
35 40 45

Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala
50 55 60

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gln Gly Thr
65 70 75

Leu Val Thr Val Ser Ser
80

<210> 122
<211> 80
<212> PRT
<213> 智人

<400> 122
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
1 5 10 15

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Trp Val Arg Gln Ala
20 25 30

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp
35 40 45

Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala
50 55 60

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu
65 70 75

Val Thr Val Ser Ser
80

<210> 123
<211> 86
<212> PRT
<213> 智人

<400> 123
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
1 5 10 15

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys
20 25 30

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

Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
50 55 60

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Cys Ala Arg
65 70 75

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
80 85

<210> 124
<211> 81
<212> PRT
<213> 智人

<400> 124
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
1 5 10 15

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Trp Val Arg Gln Ala
20 25 30

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp
35 40 45

Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala
50 55 60

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Gly Gln Gly Thr
65 70 75

Leu Val Thr Val Ser Ser
80

<210> 125
<211> 80
<212> PRT
<213> 智人

<400> 125
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
1 5 10 15

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Trp Val Arg Gln Ala
20 25 30

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp
35 40 45

Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala
50 55 60

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu
65 70 75

Val Thr Val Ser Ser
80

<210> 126
<211> 79
<212> PRT
<213> 智人

<400> 126
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
1 5 10 15

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Trp Val Arg Gln Ala
20 25 30

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp
35 40 45

Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala
50 55 60

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
65 70 75

Thr Val Ser Ser

<210> 127
<211> 80
<212> PRT
<213> 智人

<400> 127
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
1 5 10 15

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
20 25 30

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
35 40 45

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu
50 55 60

Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gly Gln Gly Thr
65 70 75

Lys Val Glu Ile Lys
80

<210> 128
<211> 80
<212> PRT
<213> 智人

<400> 128
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro
1 5 10 15

Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly
20 25 30

Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
35 40 45

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val
50 55 60

Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gly Gln Gly Thr
65 70 75

Lys Val Glu Ile Lys
80

<210> 129
<211> 80
<212> PRT
<213> 智人

<400> 129
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro
1 5 10 15

Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
20 25 30

Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
35 40 45

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu
50 55 60

Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Phe Gly Gln Gly Thr
65 70 75

Lys Val Glu Ile Lys
80

<210> 130
<211> 80
<212> PRT
<213> 智人

<400> 130
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu
1 5 10 15

Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
20 25 30

Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
35 40 45

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu
50 55 60

Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Phe Gly Gln Gly Thr
65 70 75

Lys Val Glu Ile Lys
80

<210> 131
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> huMA79b 接枝物之 HVR1-LC

<400> 131
Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Phe Leu Asn
1 5 10 15

<210> 132
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> huMA79b 接枝物之 HVR2-LC

<400> 132
Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser
5

<210> 133
<211> 9
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> huMA79b 接枝物之 HVR3-LC

<400> 133
Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Leu Thr
5

<210> 134
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> huMA79b 接枝物之 HVR1-HC

<400> 134
Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr Trp Ile Glu
5 10

<210> 135
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> huMA79b 接枝物之 HVR2-HC

<400> 135
Gly Glu Ile Leu Pro Gly Gly Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Glu Ile
1 5 10 15

Phe Lys Gly

<210> 136
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> huMA79b 接枝物之 HVR3-HC

<400> 136
Thr Arg Arg Val Pro Val Tyr Phe Asp Tyr
5 10

<210> 137
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b. V28)之 HVR1-LC

<400> 137
Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Glu Gly Asp Ser Phe Leu Asn
1 5 10 15

<210> 138
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b. V28)之 HVR3-HC

<400> 138
Thr Arg Arg Val Pro Ile Arg Leu Asp Tyr
5 10

<210> 139
<211> 23
<212> PRT

<213> 智人

<400> 139
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
1 5 10 15

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
20

<210> 140
<211> 15
<212> PRT
<213> 智人

<400> 140
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 141
<211> 32
<212> PRT
<213> 智人

<400> 141
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
1 5 10 15

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr
20 25 30

Tyr Cys

<210> 142
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 142
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
5 10

<210> 143
<211> 25
<212> PRT
<213> 智人

<400> 143
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
1 5 10 15

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 144
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人

<400> 144
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
5 10

<210> 145
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 145
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
1 5 10 15

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 146
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 146
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
5 10

<210> 147
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體之 FR3-HC 複合物

<220>
<221> Xaa
<222> 6
<223> Xaa 為 A 或 R

<220>
<221> Xaa
<222> 8
<223> Xaa 為 T 或 N

<220>
<221> Xaa
<222> 13
<223> Xaa 為 A 或 L

<400> 147
Arg Phe Thr Ile Ser Xaa Asp Xaa Ser Lys Asn Thr Xaa Tyr Leu
1 5 10 15

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 148
<211> 31
<212> PRT
<213> 智人

<400> 148
Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu
1 5 10 15

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

Ala

<210> 149
<211> 32
<212> PRT
<213> 智人

<400> 149
Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu
1 5 10 15

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

Ala Arg

<210> 150
<211> 31
<212> PRT
<213> 智人

<400> 150

Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu
1 5 10 15

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

Ser

<210> 151
<211> 32
<212> PRT
<213> 智人

<400> 151
Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu
1 5 10 15

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

Ser Arg

<210> 152
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v17)之 FR1-LC

<400> 152
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
1 5 10 15

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
20

<210> 153
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v17)之 FR2-LC

<400> 153
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 154
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v17)之 FR3-LC

<400> 154
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
1 5 10 15

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr
20 25 30

Tyr Cys

<210> 155
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

5

<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v17)之FR4-LC

<400> 155
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
5 10

<210> 156
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v17)之HVR1-LC

<400> 156
Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Phe Leu Asn
1 5 10 15

<210> 157
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v17)之HVR2-LC

<400> 157
Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser
5

<210> 158
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v17)之HVR3-LC

<400> 158
Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Leu Thr
5

<210> 159
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v17)之CL1-LC

<400> 159
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
20 25 30

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala
35 40 45

Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
50 55 60

Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys
65 70 75

Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
80 85 90

Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu
95 100 105

Cys

<210> 160
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v17)之 FR1-HC

<400> 160
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
1 5 10 15

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 161
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v17)之 FR2-HC

<400> 161
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
5 10

<210> 162
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v17)之 FR3-HC

<400> 162
Arg Ala Thr Phe Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu
1 5 10 15

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 163
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v17)之 FR4-HC

<400> 163
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
5 10

<210> 164
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v17)之 HVR1-HC

<400> 164
Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr Trp Ile Glu
5 10

<210> 165
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v17)之 HVR2-HC

<400> 165

Gly Glu Ile Leu Pro Gly Gly Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Glu Ile
1 5 10 15

Phe Lys Gly

<210> 166
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v17)之 HVR-H3

<400> 166
Thr Arg Arg Val Pro Val Tyr Phe Asp Tyr
5 10

<210> 167
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v17)之 CH1-HC

<400> 167
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
1 5 10 15

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

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
35 40 45

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
50 55 60

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
65 70 75

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
80 85 90

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
95 100 105

Thr His Thr

<210> 168
<211> 221
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v17)之Fc-HC

<400> 168
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
1 5 10 15

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
20 25 30

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
35 40 45

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
50 55 60

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75

```
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 80                  85                  90

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
 95                 100                 105

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
110                 115                 120

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
125                 130                 135

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
140                 145                 150

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
155                 160                 165

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
170                 175                 180

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
185                 190                 195

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
200                 205                 210

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
215                 220
```

<210> 169
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v17)之LC-HC變化域

```
<400> 169
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
  1               5                  10                  15

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

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

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser
 50                  55                  60

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
 65                  70                  75

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr
 80                  85                  90

Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly
 95                 100                 105

Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
110
```

<210> 170
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v17)之HC可變域

```
<400> 170
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
  1               5                  10                  15
```

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

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

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

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

Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
80 85 90

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg Arg Val Pro Val Tyr Phe Asp
95 100 105

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
110 115

<210> 171
<211> 23
<212> PRT
<213>人工序列

<220>
<223>人類化抗體變異體(huMA79b.v18)之FR1-LC

<400> 171
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
1 5 10 15

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
20

<210> 172
<211> 15
<212> PRT
<213>人工序列

<220>
<223>人類化抗體變異體(huMA79b.v18)之 FR2-LC

<400> 172
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 173
<211> 32
<212> PRT
<213>人工序列

<220>
<223>人類化抗體變異體(huMA79b.v18)之 FR3-LC

<400> 173
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
1 5 10 15

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr
20 25 30

Tyr Cys

<210> 174
<211> 11
<212> PRT
<213>人工序列

<220>
<223>人類化抗體變異體(huMA79b.v18)之FR4-LC

<400> 174

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
5 10

<210> 175
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v18)之 HVR1-LC

<400> 175
Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Phe Leu Asn
1 5 10 15

<210> 176
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v18)之 HVR2-LC

<400> 176
Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser
5

<210> 177
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v18)之 HVR3-LC

<400> 177
Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Leu Thr
5

<210> 178
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v18)之 CL1-LC

<400> 178
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
20 25 30

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala
35 40 45

Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
50 55 60

Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys
65 70 75

Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
80 85 90

Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu
95 100 105

Cys

<210> 179
<211> 25
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v18)之FR1-HC

<400> 179
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
1 5 10 15

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 180
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v18)之FR2-HC

<400> 180
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
5 10

<210> 181
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v18)之FR3-HC

<400> 181
Arg Ala Thr Phe Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu
1 5 10 15

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 182
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v18)之FR4-HC

<400> 182
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
5 10

<210> 183
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v18)之HVR1-HC

<400> 183
Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr Trp Ile Glu
5 10

<210> 184
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v18)之HVR2-HC

<400> 184
Gly Glu Ile Leu Pro Gly Gly Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Glu Ile
1 5 10 15

Phe Lys Gly

<210> 185
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v18)之 HVR3-HC

<400> 185
Thr Arg Arg Val Pro Ile Arg Leu Asp Tyr
5 10

<210> 186
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v18)之 CH1-HC

<400> 186
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
1 5 10 15

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

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
35 40 45

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
50 55 60

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
65 70 75

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
80 85 90

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
95 100 105

Thr His Thr

<210> 187
<211> 221
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v18)之 Fc-HC

<400> 187
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
1 5 10 15

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
20 25 30

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
35 40 45

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
50 55 60

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
80 85 90

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
95 100 105

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
110 115 120

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
125 130 135

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
140 145 150

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
155 160 165

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
170 175 180

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
185 190 195

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
200 205 210

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
215 220

<210> 188
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v18)之LC可變域

<400> 188
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
1 5 10 15

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

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

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser
50 55 60

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
65 70 75

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr
80 85 90

Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly
95 100 105

Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
110

<210> 189
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v18)之HC可變域

<400> 189
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
80 85 90

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg Arg Val Pro Ile Arg Leu Asp
95 100 105

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
110 115

<210> 190
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v28)之 FR1-LC

<400> 190
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
1 5 10 15

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
20

<210> 191
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v28)之 FR2-LC

<400> 191
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 192
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v28)之 FR3-LC

<400> 192
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
1 5 10 15

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr
20 25 30

Tyr Cys

<210> 193
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v28)之 FR4-LC

<400> 193
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
5 10

<210> 194
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v28)之 HVR1-LC

<400> 194
Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Glu Gly Asp Ser Phe Leu Asn
1 5 10 15

<210> 195
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v28)之 HVR2-LC

<400> 195
Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser
5

<210> 196
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v28)之 HVR3-LC

<400> 196
Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Leu Thr
5

<210> 197
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v28)之 CL1-LC

<400> 197
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
20 25 30

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala
35 40 45

Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
50 55 60

Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys
65 70 75

Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
80 85 90

Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu
95 100 105

Cys

<210> 198
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v28)之 FR1-HC

<400> 198
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
1 5 10 15

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 199
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v28)之 FR2-HC

<400> 199
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
5 10

<210> 200
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v28)之 FR3-HC

<400> 200
Arg Ala Thr Phe Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu
1 5 10 15

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 201
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v28)之 FR4-HC

<400> 201
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
5 10

<210> 202
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v28)之 HVR1-HC

<400> 202
Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr Trp Ile Glu
5 10

<210> 203
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v28)之HVR2-HLC

<400> 203
Gly Glu Ile Leu Pro Gly Gly Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Glu Ile
1 5 10 15

Phe Lys Gly

<210> 204
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v28)之HVR3-HC

<400> 204
Thr Arg Arg Val Pro Ile Arg Leu Asp Tyr
5 10

<210> 205
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v28)之CH1-HC

<400> 205
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
1 5 10 15

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

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
35 40 45

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
50 55 60

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
65 70 75

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
80 85 90

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
95 100 105

Thr His Thr

<210> 206
<211> 221
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.V28)之Fc-HC

<400> 206
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
1 5 10 15

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
20 25 30

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
35 40 45

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
50 55 60

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
80 85 90

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
95 100 105

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
110 115 120

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
125 130 135

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
140 145 150

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
155 160 165

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
170 175 180

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
185 190 195

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
200 205 210

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
215 220

<210> 207
<211> 112
<212> PRT
<213>人工序列

<220>
<223> (huMA79b. v28) 之LC可變域

<400> 207
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
1 5 10 15

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

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

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser
50 55 60

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
65 70 75

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr
80 85 90

Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly
95 100 105

Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
110

<210> 208
<211> 117
<212> PRT
<213>人工序列

<220>
<223>人類化抗體(huMA79b. v28)之HC可變域

<400> 208
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
80 85 90

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg Arg Val Pro Ile Arg Leu Asp
95 100 105

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
110 115

<210> 209
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v32)之FR1-LC

<400> 209
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
1 5 10 15

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
20

<210> 210
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v32)之FR2-LC

<400> 210
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Phe Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 211
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v32)之FR3-LC

<400> 211
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
1 5 10 15

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr
20 25 30

Tyr Cys

<210> 212
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v32)之FR4-LC

<400> 212
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
5 10

<210> 213
<211> 15
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v32)之 HVR1-LC

<400> 213
Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Ser Gly Asp Ser Phe Leu Asn
1 5 10 15

<210> 214
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v32)之 HVR2-LC

<400> 214
Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser
5

<210> 215
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v32)之 HVR3-LC

<400> 215
Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Leu Thr
5

<210> 216
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v32)之 CL1-LC

<400> 216
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
20 25 30

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala
35 40 45

Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
50 55 60

Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys
65 70 75

Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
80 85 90

Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu
95 100 105

Cys

<210> 217
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v32)之 FR1-HC

<400> 217

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

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 218
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v32)之 FR2-HC

<400> 218
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
5 10

<210> 219
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v32)之 FR3-HC

<400> 219
Arg Ala Thr Phe Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu
1 5 10 15

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 220
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v32)之 FR4-HC

<400> 220
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
5 10

<210> 221
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v32)之 HVR1-HC

<400> 221
Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr Trp Ile Glu
5 10

<210> 222
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v32)之HVR2-HC

<400> 222
Gly Glu Ile Leu Pro Gly Gly Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Glu Ile
1 5 10 15

Phe Lys Gly

<210> 223
<211> 10
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v32)之 HVR3-HC

<400> 223
Thr Arg Arg Val Pro Ile Arg Leu Asp Tyr
5 10

<210> 224
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v32)之CH1-HC

<400> 224
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
1 5 10 15

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

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
35 40 45

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
50 55 60

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
65 70 75

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
80 85 90

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
95 100 105

Thr His Thr

<210> 225
<211> 221
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v32)之Fc-HC

<400> 225
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
1 5 10 15

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
20 25 30

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
35 40 45

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
50 55 60

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
80 85 90

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
95 100 105

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
110 115 120

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
125 130 135

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
140 145 150

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
155 160 165

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
170 175 180

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
185 190 195

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
200 205 210

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
215 220

<210> 226
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v32)之LC可變域

<400> 226
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
1 5 10 15

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

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

Lys Ala Pro Lys Leu Phe Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser
50 55 60

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
65 70 75

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr
80 85 90

Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly
95 100 105

Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
110

<210> 227
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗體變異體(huMA79b.v32)之HC可變域

<400> 227
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
80 85 90

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg Arg Val Pro Ile Arg Leu Asp
95 100 105

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
110 115

<210> 228
<211> 446
<212> PRT
<213>人工序列

<220>
<223> ThioMAb-huMA79b.v17-HC(A118C) 變異體 - HC

<400> 228
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
80 85 90

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg Arg Val Pro Val Tyr Phe Asp
95 100 105

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Cys Ser Thr
110 115 120

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
125 130 135

Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
140 145 150

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
155 160 165

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
170 175 180

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
185 190 195

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
200 205 210

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
215 220 225

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
320 325 330

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
335 340 345

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
350 355 360

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
365 370 375

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
380 385 390

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
395 400 405

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
410 415 420

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
425 430 435

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
440 445

<210> 229
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ThioMAb-huMA79b.v17-HC(A118C) 變異體 - LC

<400> 229
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
1 5 10 15

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

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

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser
50 55 60

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
65 70 75

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr
80 85 90

Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly
95 100 105

Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe
110 115 120

Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser
125 130 135

Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val
140 145 150

Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
155 160 165

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
170 175 180

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
185 190 195

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
200 205 210

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
215

<210> 230
<211> 446
<212> PRT
<213>人工序列

<220>
<223> ThioMAb-huMA79b.v18-HC(A118C) 變異體 - HC

<400> 230
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
80 85 90

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg Arg Val Pro Ile Arg Leu Asp
95 100 105

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Cys Ser Thr
110 115 120

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
125 130 135

Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
140 145 150

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
155 160 165

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
170 175 180

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
185 190 195

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
200 205 210

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
215 220 225

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255

```
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
                260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
                275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
                290                 295                 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                305                 310                 315

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
                320                 325                 330

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
                335                 340                 345

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
                350                 355                 360

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
                365                 370                 375

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
                380                 385                 390

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
                395                 400                 405

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
                410                 415                 420

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
                425                 430                 435

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
                440                 445
```

<210> 231
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ThioMAb-huMA79b.v18-HC(A118C) 變異體 - LC

<400> 231

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

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

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

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser
                50                  55                  60

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
                65                  70                  75

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr
                80                  85                  90

Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly
                95                 100                 105

Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe
               110                 115                 120

Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser
               125                 130                 135
```

Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val
140 145 150

Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
155 160 165

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
170 175 180

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
185 190 195

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
200 205 210

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
215

<210> 232
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ThioMAb-huMA79b.v28-HC(A118C) 變異體 - HC

<400> 232
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
80 85 90

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg Arg Val Pro Ile Arg Leu Asp
95 100 105

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Cys Ser Thr
110 115 120

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
125 130 135

Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
140 145 150

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
155 160 165

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
170 175 180

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
185 190 195

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
200 205 210

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
215 220 225

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
230 235 240

```
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
                245                 250                 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
                260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
                275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
                290                 295                 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                305                 310                 315

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
                320                 325                 330

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
                335                 340                 345

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
                350                 355                 360

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
                365                 370                 375

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
                380                 385                 390

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
                395                 400                 405

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
                410                 415                 420

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
                425                 430                 435

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
                440                 445
```

<210> 233
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ThioMAb-huMA79b.v28-HC(A118C) 變異體 - LC

<400> 233

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

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

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

 Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser
                50                  55                  60

 Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
                65                  70                  75

 Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr
                80                  85                  90

 Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly
                95                 100                 105

 Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe
               110                 115                 120
```

Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser
125 130 135

Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val
140 145 150

Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
155 160 165

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
170 175 180

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
185 190 195

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
200 205 210

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
215

<210> 234
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ThioMAb-chMA79b- LC(V205C) 變異體 - HC

<400> 234
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Met Lys Pro Gly
1 5 10 15

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

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

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

Asn Glu Ile Phe Lys Gly Lys Ala Thr Phe Thr Ala Asp Thr Ser
65 70 75

Ser Asn Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp
80 85 90

Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg Arg Val Pro Val Tyr Phe Asp
95 100 105

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
110 115 120

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
125 130 135

Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
140 145 150

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
155 160 165

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
170 175 180

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
185 190 195

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
200 205 210

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
215 220 225

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
320 325 330

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
335 340 345

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
350 355 360

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
365 370 375

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
380 385 390

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
395 400 405

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
410 415 420

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
425 430 435

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
440 445

<210> 235
<211> 218
<212> PRT
<213>人工序列

<220>
<223> ThioMAb-chMA79b- LC(V205C) 變異體 - LC

<400> 235
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu
1 5 10 15

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

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

Gln Pro Pro Lys Leu Phe Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser
50 55 60

Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
65 70 75

Thr Leu Asn Ile His Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr
80 85 90

Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly
95 100 105

Thr Glu Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe
110 115 120

Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser
125 130 135

Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val
140 145 150

Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
155 160 165

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
170 175 180

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
185 190 195

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Cys Thr
200 205 210

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
215

<210> 236
<211> 446
<212> PRT
<213>人工序列

<220>
<223> ThioMAb-chMA79b- HC(A118C) 變異體 - HC

<400> 236
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Met Lys Pro Gly
1 5 10 15

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

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

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

Asn Glu Ile Phe Lys Gly Lys Ala Thr Phe Thr Ala Asp Thr Ser
65 70 75

Ser Asn Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp
80 85 90

Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg Arg Val Pro Val Tyr Phe Asp
95 100 105

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Cys Ser Thr
110 115 120

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
125 130 135

Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
140 145 150

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
155 160 165

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
170 175 180

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
185 190 195

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
200 205 210

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
215 220 225

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
320 325 330

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
335 340 345

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
350 355 360

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
365 370 375

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
380 385 390

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
395 400 405

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
410 415 420

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
425 430 435

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
440 445

<210> 237
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ThioMAb-chMA79b- HC(A118C) 變異體 - LC

<400> 237
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu
1 5 10 15

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

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

Gln Pro Pro Lys Leu Phe Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser
50 55 60

Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
65 70 75

Thr Leu Asn Ile His Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr
80 85 90

Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly
95 100 105

Thr Glu Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe
110 115 120

Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser
125 130 135

Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val
140 145 150

Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
155 160 165

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
170 175 180

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
185 190 195

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
200 205 210

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
215

<210> 238
<211> 893
<212> DNA
<213>食蟹猴

<400> 238
tcatggtgat ggtgatgatg accggtacgc gtagaatcga gaccgaggag 50

agggttaggg ataggcttac cttcgaaccg cgggccctct agactcgagc 100

ggccgccact gtgctggata tctgcagaat tgcccttggg gacagagcag 150

tgaccatggc caggctggcg ttgtctcctg tgtccagcca ctggctggtg 200

gcgttgctgc tgctgctctc agcagctgag ccagtgccag cagccaaatc 250

agaggacctg tacccgaatc ccaaaggtag tgcttgttct cggatctggc 300

agagcccacg tttcatagcc aggaaacggg gcttcacggt gaaaatgcac 350

tgctacgtga ccaacagcac cttcagcatc gtgagctggc tccggaagcg 400

ggagacggac aaggagcccc aacaggtgaa cctggagcag ggccacatgc 450

atcagaccca aaacagctct gtcaccaccc tcatcatcca agacatccgg 500

tttgaggaca acggcatcta cttctgtcag caggagtgca gcaagacctc 550

ggaggtctac cggggctgcg gcacggagct gcgagtcatg gggttcagca 600

ccttggcaca gctgaagcag aggaacacgc tgaaggatgg catcatcatg 650

atccagacgc tgctgatcat cctcttcatc atcgtgccca tcttcctgct 700

gctggacaag gatgacagca aggccggcat ggaggaagat cacacctacg 750

agggcctgga cattgaccag acggccacct acgaggacat agtgacgctg 800

cggacagggg aagtgaagtg gtctgtgggt gagcacccag gtcaggagtg 850

agagccagga cctccccacg gcctgggtgc aggctcccca gcc 893

<210> 239
<211> 231
<212> PRT
<213>食蟹猴

<400> 239

Met Ala Arg Leu Ala Leu Ser Pro Val Ser Ser His Trp Leu Val
1 5 10 15

Ala Leu Leu Leu Leu Leu Ser Ala Ala Glu Pro Val Pro Ala Ala
20 25 30

Lys Ser Glu Asp Leu Tyr Pro Asn Pro Lys Gly Ser Ala Cys Ser
35 40 45

Arg Ile Trp Gln Ser Pro Arg Phe Ile Ala Arg Lys Arg Gly Phe
50 55 60

Thr Val Lys Met His Cys Tyr Val Thr Asn Ser Thr Phe Ser Ile
65 70 75

Val Ser Trp Leu Arg Lys Arg Glu Thr Asp Lys Glu Pro Gln Gln
80 85 90

Val Asn Leu Glu Gln Gly His Met His Gln Thr Gln Asn Ser Ser
95 100 105

Val Thr Thr Leu Ile Ile Gln Asp Ile Arg Phe Glu Asp Asn Gly
110 115 120

Ile Tyr Phe Cys Gln Gln Glu Cys Ser Lys Thr Ser Glu Val Tyr
125 130 135

Arg Gly Cys Gly Thr Glu Leu Arg Val Met Gly Phe Ser Thr Leu
140 145 150

Ala Gln Leu Lys Gln Arg Asn Thr Leu Lys Asp Gly Ile Ile Met
155 160 165

Ile Gln Thr Leu Leu Ile Ile Leu Phe Ile Ile Val Pro Ile Phe
170 175 180

Leu Leu Leu Asp Lys Asp Asp Ser Lys Ala Gly Met Glu Glu Asp
185 190 195

His Thr Tyr Glu Gly Leu Asp Ile Asp Gln Thr Ala Thr Tyr Glu
200 205 210

Asp Ile Val Thr Leu Arg Thr Gly Glu Val Lys Trp Ser Val Gly
215 220 225

Glu His Pro Gly Gln Glu
230

<210> 240
<211> 800
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 嵌合抗 -cyno CD79b (ch10D10)- LC

<400> 240
acctcggttc tatcgattga attccaccat gggatggtca tgtatcatcc 50

tttttctagt agcaactgca actggagtac attcagatat cgtgctgacc 100

caatctccac cctctttggc tgtgtctcta gggcagaggg ccaccatatc 150

ctgcagagcc agtgaaagtg ttgatagtta tggcaaaact tttatgcact 200

ggcaccagca gaaaccagga cagccaccca aactcctcat ctatcgtgta 250

tccaacctag aatctgggat ccctgccagg ttcagtggca gtgggtcaag 300

gacagacttc accctcacca ttaatcctgt ggaggctgat gatgttgcaa 350

cctattactg tcagcaaagt aatgaggatc cgttcacgtt cggtggaggc 400

accaagctgg aaatcaaacg gaccgtggct gcaccatctg tcttcatctt 450

cccgccatct gatgagcagt tgaaatctgg aactgcctct gttgtgtgcc 500

tgctgaataa cttctatccc agagaggcca aagtacagtg gaaggtggat 550

aacgccctcc aatcgggtaa ctcccaggag agtgtcacag agcaggacag 600

caaggacagc acctacagcc tcagcagcac cctgacgctg agcaaagcag 650

actacgagaa acacaaagtc tacgcctgcg aagtcaccca tcagggcctg 700

agctcgcccg tcacaaagag cttcaacagg ggagagtgtt aagcttggcc 750

gccatggccc aacttgttta ttgcagctta taatggttac aaataaagca 800

<210> 241
<211> 218
<212> PRT
<213>人工序列

<220>
<223> 嵌合抗-cyno CD79b (ch10D10)- LC

<400> 241

Asp	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Pro	Ser	Leu	Ala	Val	Ser	Leu	
1				5				10						15	
Gly	Gln	Arg	Ala	Thr	Ile	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Glu	Ser	Val	Asp	
				20				25						30	
Ser	Tyr	Gly	Lys	Thr	Phe	Met	His	Trp	His	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	
				35				40						45	
Gln	Pro	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Arg	Val	Ser	Asn	Leu	Glu	Ser	
				50				55						60	
Gly	Ile	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Arg	Thr	Asp	Phe	
				65				70						75	
Thr	Leu	Thr	Ile	Asn	Pro	Val	Glu	Ala	Asp	Asp	Val	Ala	Thr	Tyr	
				80				85						90	
Tyr	Cys	Gln	Gln	Ser	Asn	Glu	Asp	Pro	Phe	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	
				95				100						105	
Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	
				110				115						120	
Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	
				125				130						135	
Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	
				140				145						150	
Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	
				155				160						165	
Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	
				170				175						180	
Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	
				185				190						195	
Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	
				200				205						210	
Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys								
				215											

<210> 242
<211> 1500
<212> DNA
<213>人工序列

<220>
<223> 嵌合抗-cyno CD79b (ch10D10)- LC

<400> 242
cacctcggtt ctatcgattg aattccacca tgggatggtc atgtatcatc 50

cttttttctag tagcaactgc aactggagta cattcagaag ttcagctgca 100

ggagtcggga cctggcctgg tgaaaccttc tcagtctctg tccctcacct 150

gcactgtcac tggctactca atcaccagtg attatgcctg gaactggatc 200

cggcagtttc caggaaacaa actggagtgg atgggcaaca tatggtacag 250

tggtagcact acctacaacc catctctcaa aagtcgaatc tctatcactc 300

gagacacatc caagaaccag ttcttcctgc agttgaattc tgtgacttct 350

gaggacacag ccacatatta ctgttcaaga atggacttct ggggtcaagg 400

caccactctc acagtctcct cagcctccac caagggccca tcggtcttcc 450

ccctggcacc ctcctccaag agcacctctg ggggcacagc ggccctgggc 500

tgcctggtca aggactactt ccccgaaccg gtgacggtgt cgtggaactc 550

aggcgccctg accagcggcg tgcacacctt cccggctgtc ctacagtcct 600

caggactcta ctccctcagc agcgtggtga ctgtgccctc tagcagcttg 650

ggcacccaga cctacatctg caacgtgaat cacaagccca gcaacaccaa 700

ggtggacaag aaagttgagc ccaaatcttg tgacaaaact cacacatgcc 750

caccgtgccc agcacctgaa ctcctggggg gaccgtcagt cttcctcttc 800

cccccaaaac ccaaggacac cctcatgatc tcccggaccc ctgaggtcac 850

atgcgtggtg gtggacgtga gccacgaaga ccctgaggtc aagttcaact 900

ggtacgtgga cggcgtggag gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag 950

gagcagtaca acagcacgta ccgtgtggtc agcgtcctca ccgtcctgca 1000

ccaggactgg ctgaatggca aggagtacaa gtgcaaggtc tccaacaaag 1050

ccctcccagc ccccatcgag aaaaccatct ccaaagccaa agggcagccc 1100

cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca tcccgggaag agatgaccaa 1150

gaaccaggtc agcctgacct gcctggtcaa aggcttctat cccagcgaca 1200

tcgccgtgga gtgggagagc aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc 1250

acgcctcccg tgctggactc cgacggctcc ttcttcctct acagcaagct 1300

caccgtggac aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc tcatgctccg 1350

tgatgcatga ggctctgcac aaccactaca cgcagaagag cctctccctg 1400

tctccgggta aatgagtgcg acggccctag agtcgacctg cagaagcttg 1450

gccgccatgg cccaacttgt ttattgcagc ttataatggt tacaaataaa 1500

<210> 243
<211> 441
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 嵌合抗-cyno CD79b (ch10D10)- LC

<400> 243
Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser
1 5 10 15

Gln Ser Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr

```
                20                  25                  30

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

Leu Glu Trp Met Gly Asn Ile Trp Tyr Ser Gly Ser Thr Thr Tyr
                50                  55                  60

Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser
                65                  70                  75

Lys Asn Gln Phe Phe Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Ser Glu Asp
                80                  85                  90

Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ser Arg Met Asp Phe Trp Gly Gln Gly
                95                  100                 105

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
                110                 115                 120

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
                125                 130                 135

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
                140                 145                 150

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                155                 160                 165

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
                170                 175                 180

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
                185                 190                 195

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
                200                 205                 210

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
                215                 220                 225

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
                230                 235                 240

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
                245                 250                 255

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
                260                 265                 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
                275                 280                 285

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
                290                 295                 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
                305                 310                 315

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
                320                 325                 330

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
                335                 340                 345

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
                350                 355                 360

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
                365                 370                 375

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                380                 385                 390

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
```

395 400 405

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
410 415 420

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
425 430 435

Leu Ser Leu Ser Pro Gly
440

<210> 244
<211> 441
<212> PRT
<213>人工序列

<220>
<223> Thio-MAb- 抗 -cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C) 變異體 - HC

<400> 244
Asp Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser
1 5 10 15

Gln Ser Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr
20 25 30

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

Leu Glu Trp Met Gly Asn Ile Trp Tyr Ser Gly Ser Thr Thr Tyr
50 55 60

Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser
65 70 75

Lys Asn Gln Phe Phe Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Ser Glu Asp
80 85 90

Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ser Arg Met Asp Phe Trp Gly Gln Gly
95 100 105

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Cys Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
110 115 120

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
125 130 135

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
140 145 150

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
155 160 165

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
170 175 180

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
185 190 195

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
200 205 210

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
215 220 225

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
230 235 240

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
245 250 255

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
320 325 330

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
335 340 345

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
350 355 360

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
365 370 375

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
380 385 390

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
395 400 405

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
410 415 420

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
425 430 435

Leu Ser Leu Ser Pro Gly
440

<210> 245
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio-MAb- 抗 -cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C) 變異體 - LC

<400> 245
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Pro Ser Leu Ala Val Ser Leu
1 5 10 15

Gly Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp
20 25 30

Ser Tyr Gly Lys Thr Phe Met His Trp His Gln Gln Lys Pro Gly
35 40 45

Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Leu Glu Ser
50 55 60

Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe
65 70 75

Thr Leu Thr Ile Asn Pro Val Glu Ala Asp Asp Val Ala Thr Tyr
80 85 90

Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Phe Thr Phe Gly Gly Gly
95 100 105

Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe
110 115 120

Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser
125 130 135

Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val
140 145 150

Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu

155 160 165

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
170 175 180

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
185 190 195

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
200 205 210

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
215

<210> 246
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 白蛋白結合肽

<400> 246
Cys Asp Lys Thr His Thr Gly Gly Gly Ser Gln Arg Leu Met Glu
1 5 10 15

Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu Asp Asp Phe
20 25 30

<210> 247
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 白蛋白結合肽

<400> 247
Gln Arg Leu Met Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu
1 5 10 15

Trp Glu Asp Asp Phe
20

<210> 248
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 白蛋白結合肽

<400> 248
Gln Arg Leu Ile Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu
1 5 10 15

Trp Glu Asp Asp Phe
20

<210> 249
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 白蛋白結合肽

<400> 249
Arg Leu Ile Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp
1 5 10 15

Glu Asp Asp

<210> 250

<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 白蛋白結合肽

<400> 250
Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp
5 10

<210> 251
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio-huMA79b HC-變異體

<400> 251
Glu Val Gln Leu Cys Glu Ser Gly Gly Gly
5 10

<210> 252
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio-huMA79b HC-變異體

<400> 252
Leu Arg Leu Ser Cys Cys Ala Ser Gly Tyr Thr
5 10

<210> 253
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio-huMA79b HC-變異體

<400> 253
Met Asn Ser Leu Arg Cys Glu Asp Thr Ala Val
5 10

<210> 254
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio-huMA79b HC-變異體

<400> 254
Thr Leu Val Thr Val Cys Ser Ala Ser Thr Lys
5 10

<210> 255
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio-huMA79b HC-變異體

<400> 255
Val Thr Val Ser Ser Cys Ser Thr Lys Gly Pro
5 10

<210> 256
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio-huMA79b HC-變異體

<400> 256
Val Ser Ser Ala Ser Cys Lys Gly Pro Ser Val
5 10

<210> 257
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio-huMA79b HC-變異體

<400> 257
Trp Tyr Val Asp Gly Cys Glu Val His Asn Ala
5 10

<210> 258
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio-huMA79b HC-變異體

<400> 258
Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu
5 10

<210> 259
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio-chMA79b HC-變異體

<400> 259
Pro Pro Val Leu Asp Cys Asp Gly Ser Phe Phe
5 10

<210> 260
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio-chMA79b HC-變異體

<400> 260
Glu Val Gln Leu Cys Gln Ser Gly Ala Glu
5 10

<210> 261
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio-chMA79b HC-變異體

<400> 261
Val Lys Ile Ser Cys Cys Ala Thr Gly Tyr Thr
5 10

<210> 262
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio-chMA79b HC-變異體

<400> 262
Leu Ser Ser Leu Thr Cys Glu Asp Ser Ala Val
5 10

<210> 263
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio-chMA79b HC-變異體

<400> 263
Thr Ser Val Thr Val Cys Ser Ala Ser Thr Lys
5 10

<210> 264
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio-chMA79b HC-變異體

<400> 264
Val Thr Val Ser Ser Cys Ser Thr Lys Gly Pro
5 10

<210> 265
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio-chMA79b HC-變異體

<400> 265
Val Ser Ser Ala Ser Cys Lys Gly Pro Ser Val
5 10

<210> 266
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio-chMA79b HC-變異體

<400> 266
Trp Tyr Val Asp Gly Cys Glu Val His Asn Ala
5 10

<210> 267
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio-chMA79b HC-變異體

<400> 267
Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu
5 10

<210> 268
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio-chMA79b HC-變異體

<400> 268
Pro Pro Val Leu Asp Cys Asp Gly Ser Phe Phe

5 10

<210> 269
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio 抗 -cynoCD79b(ch10D10)-HC-變異體

<400> 269
Glu Val Gln Leu Cys Glu Ser Gly Pro Gly
5 10

<210> 270
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio 抗 -cynoCD79b(ch10D10)-HC-變異體

<400> 270
Leu Ser Leu Thr Cys Cys Val Thr Gly Tyr Ser
5 10

<210> 271
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio 抗 -cynoCD79b(ch10D10)-HC-變異體

<400> 271
Leu Asn Ser Val Thr Cys Glu Asp Thr Ala Thr
5 10

<210> 272
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio 抗 -cynoCD79b(ch10D10)-HC-變異體

<400> 272
Thr Thr Leu Thr Val Cys Ser Ala Ser Thr Lys
5 10

<210> 273
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio 抗 -cynoCD79b(ch10D10)-HC-變異體

<400> 273
Leu Thr Val Ser Ser Cys Ser Thr Lys Gly Pro
5 10

<210> 274
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio 抗 -cynoCD79b(ch10D10)-HC-變異體

<400> 274
Val Ser Ser Ala Ser Cys Lys Gly Pro Ser Val
5 10

<210> 275

<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio- 抗 -cynoCD79b (ch10D10)-HC-變異體

<400> 275
Trp Tyr Val Asp Gly Cys Glu Val His Asn Ala
5 10

<210> 276
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio 抗 -cynoCD79b(ch10D10)-HC-變異體

<400> 276
Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu
5 10

<210> 277
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio 抗 -cynoCD79b(ch10D10)-HC-變異體

<400> 277
Pro Pro Val Leu Asp Cys Asp Gly Ser Phe Phe
5 10

<210> 278
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio-huMA79b LC-變異體

<400> 278
Ser Leu Ser Ala Ser Cys Gly Asp Arg Val Thr
5 10

<210> 279
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio-huMA79b LC-變異體

<400> 279
Glu Ile Lys Arg Thr Cys Ala Ala Pro Ser Val
5 10

<210> 280
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio-huMA79b LC-變異體

<400> 280
Thr Val Ala Ala Pro Cys Val Phe Ile Phe Pro
5 10

<210> 281
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio-huMA79b LC-變異體

<400> 281
Phe Ile Phe Pro Pro Cys Asp Glu Gln Leu Lys
5 10

<210> 282
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio-huMA79b LC-變異體

<400> 282
Asp Glu Gln Leu Lys Cys Gly Thr Ala Ser Val
5 10

<210> 283
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio-huMA79b LC-變異體

<400> 283
Val Thr Glu Gln Asp Cys Lys Asp Ser Thr Tyr
5 10

<210> 284
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio-huMA79b LC-變異體

<400> 284
Gly Leu Ser Ser Pro Cys Thr Lys Ser Phe Asn
5 10

<210> 285
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio-chMA79b LC-變異體

<400> 285
Ser Leu Ala Val Ser Cys Gly Gln Arg Ala Thr
5 10

<210> 286
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio-chMA79b LC-變異體

<400> 286
Glu Leu Lys Arg Thr Cys Ala Ala Pro Ser Val
5 10

<210> 287
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio-chMA79b LC-變異體

<400> 287
Thr Val Ala Ala Pro Cys Val Phe Ile Phe Pro
5 10

<210> 288
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio-chMA79b LC-變異體

<400> 288
Phe Ile Phe Pro Pro Cys Asp Glu Gln Leu Lys
5 10

<210> 289
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio-chMA79b LC-變異體

<400> 289
Asp Glu Gln Leu Lys Cys Gly Thr Ala Ser Val
5 10

<210> 290
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio-chMA79b LC-變異體

<400> 290
Val Thr Glu Gln Asp Cys Lys Asp Ser Thr Tyr
5 10

<210> 291
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio-chMA79b LC-變異體

<400> 291
Gly Leu Ser Ser Pro Cys Thr Lys Ser Phe Asn
5 10

<210> 292
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio 抗 -cynoCD79b(ch10D10)-HC-變異體

<400> 292
Ser Leu Ala Val Ser Cys Gly Gln Arg Ala Thr
5 10

<210> 293
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio 抗 -cynoCD79b(ch10D10)-HC-變異體

<400> 293
Glu Ile Lys Arg Thr Cys Ala Ala Pro Ser Val

5 10

<210> 294
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio 抗 -cynoCD79b(ch10D10)-HC-變異體

<400> 294
Thr Val Ala Ala Pro Cys Val Phe Ile Phe Pro
5 10

<210> 295
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio 抗 -cynoCD79b(ch10D10)-HC-變異體

<400> 295
Phe Ile Phe Pro Pro Cys Asp Glu Gln Leu Lys
5 10

<210> 296
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio 抗 -cynoCD79b(ch10D10)-HC-變異體

<400> 296
Asp Glu Gln Leu Lys Cys Gly Thr Ala Ser Val
5 10

<210> 297
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio 抗 -cynoCD79b(ch10D10)-HC-變異體

<400> 297
Val Thr Glu Gln Asp Cys Lys Asp Ser Thr Tyr
5 10

<210> 298
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio 抗 -cynoCD79b(ch10D10)-HC-變異體

<400> 298
Gly Leu Ser Ser Pro Cys Thr Lys Ser Phe Asn
5 10

<210> 299
<211> 441
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio 抗 -cynoCD79b-LC(V205C) 變異體 - HC

<400> 299
Asp Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser
1 5 10 15

Gln Ser Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr

```
                20                  25                  30

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

Leu Glu Trp Met Gly Asn Ile Trp Tyr Ser Gly Ser Thr Thr Tyr
                50                  55                  60

Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser
                65                  70                  75

Lys Asn Gln Phe Phe Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Ser Glu Asp
                80                  85                  90

Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ser Arg Met Asp Phe Trp Gly Gln Gly
                95                 100                 105

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
               110                 115                 120

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
               125                 130                 135

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
               140                 145                 150

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
               155                 160                 165

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
               170                 175                 180

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
               185                 190                 195

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
               200                 205                 210

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
               215                 220                 225

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
               230                 235                 240

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
               245                 250                 255

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
               260                 265                 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
               275                 280                 285

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
               290                 295                 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
               305                 310                 315

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
               320                 325                 330

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
               335                 340                 345

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
               350                 355                 360

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
               365                 370                 375

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
               380                 385                 390

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
```

395 400 405

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
410 415 420

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
425 430 435

Leu Ser Leu Ser Pro Gly
440

<210> 300
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio 抗 -cynoCD79b(ch10D10)-LC(V205C) 變異體 - LC

<400> 300
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Pro Ser Leu Ala Val Ser Leu
1 5 10 15

Gly Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp
20 25 30

Ser Tyr Gly Lys Thr Phe Met His Trp His Gln Gln Lys Pro Gly
35 40 45

Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Leu Glu Ser
50 55 60

Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe
65 70 75

Thr Leu Thr Ile Asn Pro Val Glu Ala Asp Asp Val Ala Thr Tyr
80 85 90

Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Phe Thr Phe Gly Gly Gly
95 100 105

Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe
110 115 120

Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser
125 130 135

Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val
140 145 150

Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
155 160 165

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
170 175 180

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
185 190 195

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Cys Thr
200 205 210

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
215

<210> 301
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗 -cynoCD79b (ch10D10) - HC 之可變域

<400> 301
Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser

```
  1               5                  10                  15

Gln Ser Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr
                20                  25                  30

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

Leu Glu Trp Met Gly Asn Ile Trp Tyr Ser Gly Ser Thr Thr Tyr
                50                  55                  60

Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser
                65                  70                  75

Lys Asn Gln Phe Phe Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Ser Glu Asp
                80                  85                  90

Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ser Arg Met Asp Phe Trp Gly Gln Gly
                95                 100                 105

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
               110
```

<210> 302
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-cynoCD79b (ch10D10) - LC之可變域

```
<400> 302
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Pro Ser Leu Ala Val Ser Leu
   1               5                  10                  15

 Gly Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp
                 20                  25                  30

 Ser Tyr Gly Lys Thr Phe Met His Trp His Gln Gln Lys Pro Gly
                 35                  40                  45

 Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Leu Glu Ser
                 50                  55                  60

 Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe
                 65                  70                  75

 Thr Leu Thr Ile Asn Pro Val Glu Ala Asp Asp Val Ala Thr Tyr
                 80                  85                  90

 Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Phe Thr Phe Gly Gly Gly
                 95                 100                 105

 Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
                110
```

<210> 303
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> huMA79bv.17之輕鏈

```
<400> 303
 Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
   1               5                  10                  15

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

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

 Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser
```

50 55 60

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
65 70 75

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr
80 85 90

Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly
95 100 105

Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe
110 115 120

Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser
125 130 135

Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val
140 145 150

Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
155 160 165

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
170 175 180

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
185 190 195

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
200 205 210

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
215

<210> 304
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> huMA79bv.17 之重鏈

<400> 304
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
80 85 90

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg Arg Val Pro Val Tyr Phe Asp
95 100 105

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
110 115 120

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
125 130 135

Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
140 145 150

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

155 160 165

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
170 175 180

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
185 190 195

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
200 205 210

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
215 220 225

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
320 325 330

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
335 340 345

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
350 355 360

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
365 370 375

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
380 385 390

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
395 400 405

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
410 415 420

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
425 430 435

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
440 445

<210> 305
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> huMA79bv.18之輕鏈

<400> 305
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
1 5 10 15

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

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

```
                35                  40                  45

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser
                50                  55                  60

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
                65                  70                  75

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr
                80                  85                  90

Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly
                95                  100                 105

Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe
                110                 115                 120

Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser
                125                 130                 135

Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val
                140                 145                 150

Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
                155                 160                 165

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                170                 175                 180

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
                185                 190                 195

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
                200                 205                 210

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
                215
```

<210> 306
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> huMA79bv.18之重鏈

<400> 306

```
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
   1               5                  10                  15

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

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

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

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

 Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
                 80                  85                  90

 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg Arg Val Pro Ile Arg Leu Asp
                 95                  100                 105

 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
                 110                 115                 120

 Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
                 125                 130                 135

 Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
```

```
                 140                 145                 150

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
                 155                 160                 165

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
                 170                 175                 180

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
                 185                 190                 195

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
                 200                 205                 210

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
                 215                 220                 225

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
                 230                 235                 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
                 245                 250                 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
                 260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
                 275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
                 290                 295                 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                 305                 310                 315

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
                 320                 325                 330

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
                 335                 340                 345

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
                 350                 355                 360

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
                 365                 370                 375

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
                 380                 385                 390

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
                 395                 400                 405

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
                 410                 415                 420

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
                 425                 430                 435

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
                 440                 445
```

<210> 307
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> huMA79bv.28之輕鏈

<400> 307

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

 Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp
```

20 25 30

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

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser
50 55 60

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
65 70 75

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr
80 85 90

Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly
95 100 105

Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe
110 115 120

Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser
125 130 135

Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val
140 145 150

Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
155 160 165

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
170 175 180

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
185 190 195

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
200 205 210

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
215

<210> 308
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> huMA79bv.28 之重鏈

<400> 308
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
80 85 90

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg Arg Val Pro Ile Arg Leu Asp
95 100 105

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
110 115 120

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr

```
                125                 130                 135

Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
                140                 145                 150

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
                155                 160                 165

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
                170                 175                 180

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
                185                 190                 195

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
                200                 205                 210

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
                215                 220                 225

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
                230                 235                 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
                245                 250                 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
                260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
                275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
                290                 295                 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                305                 310                 315

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
                320                 325                 330

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
                335                 340                 345

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
                350                 355                 360

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
                365                 370                 375

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
                380                 385                 390

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
                395                 400                 405

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
                410                 415                 420

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
                425                 430                 435

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
                440                 445
```

<210> 309
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> huMA79bv.32之輕鏈

<400> 309
```
 Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
```

```
  1               5                  10                  15

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

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

Lys Ala Pro Lys Leu Phe Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser
                50                  55                  60

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
                65                  70                  75

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr
                80                  85                  90

Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly
                95                  100                 105

Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe
                110                 115                 120

Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser
                125                 130                 135

Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val
                140                 145                 150

Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
                155                 160                 165

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                170                 175                 180

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
                185                 190                 195

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
                200                 205                 210

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
                215
```

<210> 310
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> huMA79bv.32 之重鏈

<400> 310

```
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
   1               5                  10                  15

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

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

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

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

 Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
                 80                  85                  90

 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg Arg Val Pro Ile Arg Leu Asp
                 95                  100                 105

 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
```

```
                110                 115                 120

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
                125                 130                 135

Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
                140                 145                 150

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
                155                 160                 165

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
                170                 175                 180

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
                185                 190                 195

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
                200                 205                 210

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
                215                 220                 225

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
                230                 235                 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
                245                 250                 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
                260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
                275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
                290                 295                 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                305                 310                 315

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
                320                 325                 330

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
                335                 340                 345

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
                350                 355                 360

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
                365                 370                 375

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
                380                 385                 390

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
                395                 400                 405

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
                410                 415                 420

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
                425                 430                 435

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
                440                 445
```

公告本

I640535

發明摘要

※ 申請案號：104111006(由098101259分割)

※ 申請日： 098/01/14 ※IPC 分類：*C07K 16/24* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61K 47/50 (2017.01)
C12N 15/13 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

【發明名稱】

抗-CD79B抗體及免疫共軛物及使用方法

ANTI-CD79B ANTIBODIES AND IMMUNOCONJUGATES AND METHODS OF USE

【中文】

本發明係關於可用於治療哺乳動物之造血腫瘤之物質組合物，及使用該等物質組合物來治療造血腫瘤之方法。

【英文】

The present invention is directed to compositions of matter useful for the treatment of hematopoietic tumor in mammals and to methods of using those compositions of matter for the same.

圖式

CAGGGGACAGGCTGCAGCCGGTGCAGTTACACGTTTTCCTCCAAGGAGCCTCGGACGTTG
TCACGGGTTTGGGGTCGGGGACAGAGCAGTGACCATGGCCAGGCTGGCGTTGTCTCCTGT
GCCCAGCCACTGGATGGTGGCGTTGCTGCTGCTCTCAGCTGAGCCAGTACCAGCAGC
CAGATCGGAGGACCGGTACCGGAATCCCAAAGGTAGTGCTTGTTCGCGGATCTGGCAGAG
CCCACGTTTCATAGCCAGGAAACGGGGCTTCACGGTGAAAATGCACTGCTACATGAACAG
CGCCTCCGGCAATGTGAGCTGGCTCTGGAAGCAGGAGATGGACGAGAATCCCCAGCAGCT
GAAGCTGGAAAAGGGCCGCATGGAAGAGTCCCAGAACGAATCTCTCGCCACCCTCACCAT
CCAAGGCATCCGGTTTGAGGACAATGGCATCTACTTCTGTCAGCAGAAGTGCAACAACAC
CTCGGAGGTCTACCAGGGCTGCGGCACAGAGCTGCGAGTCATGGGATTCAGCACCTTGGC
ACAGCTGAAGCAGAGGAACACGCTGAAGGATGGTATCATCATGATCCAGACGCTGCTGAT
CATCCTCTTCATCATCGTGCCTATCTTCCTGCTGCTGGACAAGGATGACAGCAAGGCTGG
CATGGAGGAAGATCACACCTACGAGGGCCTGGACATTGACCAGACAGCCACCTATGAGGA
CATAGTGACGCTGCGGACAGGGGAAGTGAAGTGGTCTGTAGGTGAGCACCCAGGCCAGGA
GTGAGAGCCAGGTCGCCCCATGACCTGGGTGCAGGCTCCCTGGCCTCAGTGACTGCTTCG
GAGCTGCCTGGCTCATGGCCCAACCCCTTTCCTGGACCCCCCAGCTGGCCTCTGAAGCTG
GCCCACCAGAGCTGCCATTTGTCTCCAGCCCCTGGTCCCCAGCTCTTGCCAAAGGGCCTG
GAGTAGAAGGACAACAGGGCAGCAACTTGGAGGGAGTTCTCTGGGGATGGACGGGACCCA
GCCTTCTGGGGGTGCTATGAGGTGATCCGTCCCCACACATGGGATGGGGGAGGCAGAGAC
TGGTCCAGAGCCCGCAAATGGACTCGGAGCCGAGGGCCTCCCAGCAGAGCTTGGGAAGGG
CCATGGACCCAACTGGGCCCCAGAAGAGCCACAGGAACATCATTCCTCTCCCGCAACCAC
TCCCACCCCAGGGAGGCCCTGGCCTCCAGTGCCTTCCCCCGTGGAATAAACGGTGTGTCC
TGAGAAACCA

圖1

DNA225786

MARLALSPVPSHWMVALLLLLSAEPVPAARSEDRYRNPKGSACSRIWQSPRFIARKRGFT
VKMHCYMNSASGNVSWLWKQEMDENPQQLKLEKGRMEESQNESLATLTIQGIRFEDNGIY
FCQQKCNNTSEVYQGCGTELRVMGFSTLAQLKQRNTLKDGIIMIQTLLIILFIIVPIFLL
LDKDDSKAGMEEDHTYEGLDIDQTATYEDIVTLRTGEVKWSVGEHPGQE

信號序列。
胺基酸1-28.

跨膜域。
胺基酸 5-25, 159-179.

免疫球蛋白域。
胺基酸 58-124.

基於免疫受體酪胺酸之活化基元。
胺基酸 193-213.

N-糖基化位點。
胺基酸73-76, 101-104, 127-130, 128-131.

蛋白激酶C磷酸化位點。
胺基酸 49-51, 60-62, 156-158, 212-214.

酪蛋白激酶II磷酸化位點。
胺基酸 99-102, 156-159, 206-209, 221-224.

酪胺酸激酶磷酸化位點。
胺基酸 113-120.

N-肉豆蔻醯基化位點。
胺基酸 40-45, 118-123.

圖2

嵌合抗-人類CD79b（chMA79b）輕鏈

CACTCCCAGCTCCAACTGCACCTCGGTTCTATCGATTGAATTCCACCATGGGATGGTCATGT
ATCATCCTTTTTCTAGTAGCAACTGCAACTGGAGTACATTCAGATATCGTGCTGACCCAATC
TCCAGCTTCTTTGGCTGTGTCTCTGGGGCAGAGGGCCACCATCTCCTGCAAGGCCAGCCAAA
GTGTTGATTATGATGGTGATAGTTTTTTGAACTGGTACCAACAGAAACCAGGACAGCCACCC
AAACTCTTCATCTATGCTGCATCCAATCTAGAATCTGGGATCCCAGCCAGGTTTAGTGGCAG
TGGGTCTGGGACAGACTTCACCCTCAACATCCATCCTGTGGAGGAGGAGGATGCTGCAACCT
ATTACTGTCAGCAAAGTAATGAGGATCCGCTCACGTTCGGGGCAGGCACCGAGCTGGAACTC
AAACGGACCGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATC
TGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGT
GGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGC
AAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACA
CAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCA
ACAGGGGAGAGTGTTAAGCTTGGCCGCCATGGCCCAACTTGTTTATTGCAGCTTATAATGGT
TACAAATAAAGCAATAGCATCACAAATTTCACAAATAAAGCATTTTTTTCACTGCATTCTAG
TTGTGGTTTGTCCAAACTCATCAATGTATCTTATCATGTCTGGATCGGGAATTAATTCGGC

圖3

嵌合抗-人類CD79b（chMA79b）輕鏈

DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSFLNWYQQKPGQPPKLFIYAASNLES
GIPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQQSNEDPLTFGAGTELELKRTVAAPSVF
IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS
STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

圖4

嵌合抗-人類CD79b（chMA79b）重鏈

TCGGTTCTATCGATTGAATTCCACCATGGGATGGTCATGTATCATCCTTTTTCTAGTAGCAA
CTGCAACTGGAGTACATTCAGAAGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGGGCTGAACTGATGAAGCCT
GGGGCCTCAGTGAAGATATCCTGCAAGGCTACTGGCTACACATTCAGTAGTTACTGGATAGA
GTGGGTAAAGCAGAGGCCTGGACATGGCCTTGAGTGGATTGGAGAGATTTTACCTGGAGGTG
GTGATACTAACTACAATGAGATTTTCAAGGGCAAGGCCACATTCACTGCAGATACATCCTCC
AACACAGCCTACATGCAACTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCCGTCTATTACTGTAC
AAGACGAGTACCGGTTTACTTTGACTACTGGGGCCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAG
CCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGC
ACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAA
CTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCT
ACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACTGTGCCCTCTAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGC
AACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGA
CAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC
TCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTG
GTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGA
GGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCA
GCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCC
AACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGA
ACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGA
CCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG
CCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTA
CAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA
TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA
GTGCGACGGCCCTAGAGTCGACCTGCAGAAGCTTGGCCGCCAT

圖5

嵌合抗-人類CD79b（chMA79b）重鏈

EVQLQQSGAELMKPGASVKISCKATGYTFSSYWIEWVKQRPGHGLEWIGEILPGGGDTNY
NEIFKGKATFTADTSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYYCTRRVPVYFDYWGQGTSVTVSSAST
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV
FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

圖6

VL 序列

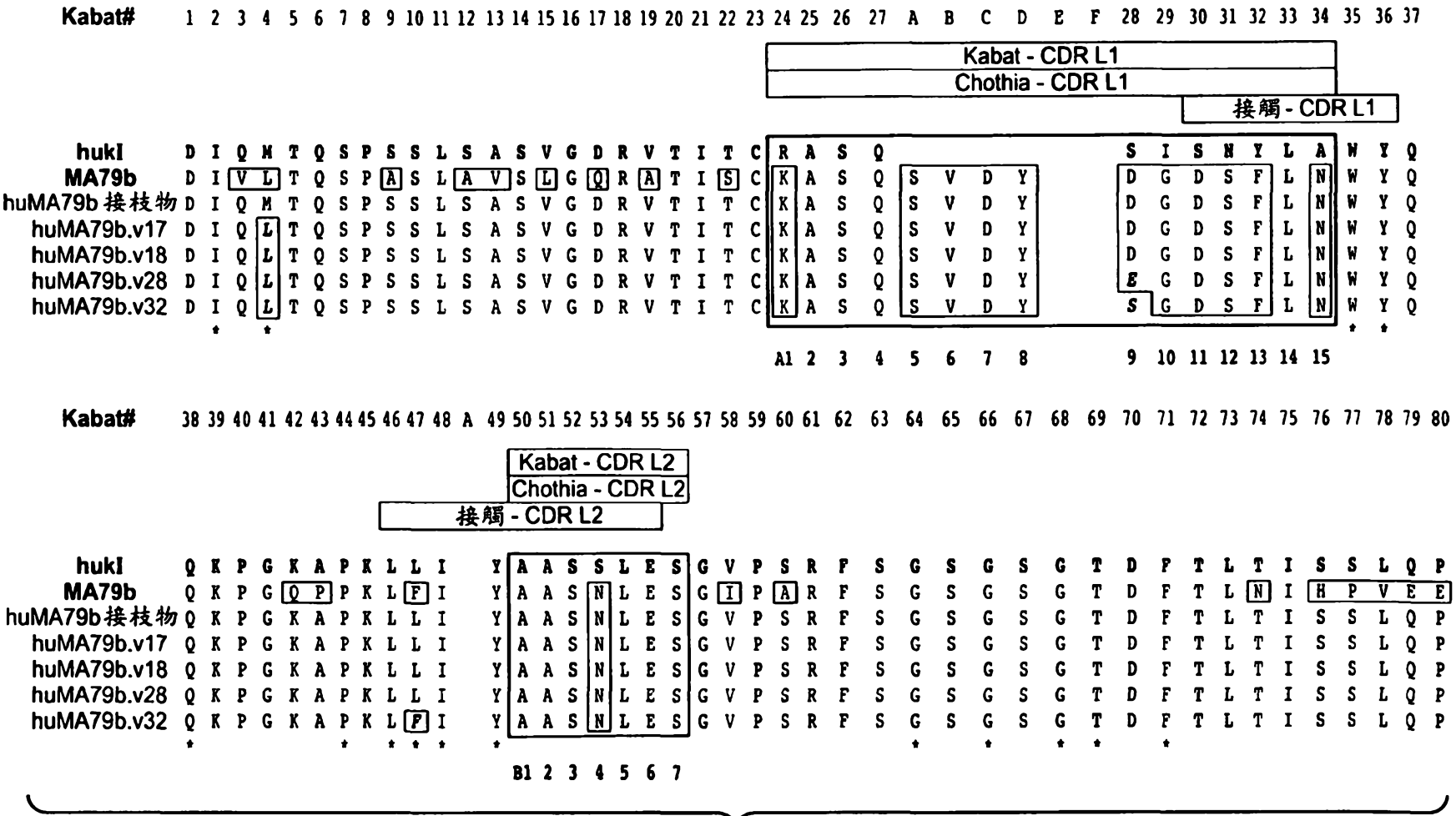

Kabat#
Kabat - CDR L1
Chothia - CDR L1
接觸 - CDR L1
hukI
MA79b
huMA79b接枝物
huMA79b.v17
huMA79b.v18
huMA79b.v28
huMA79b.v32
Kabat - CDR L2
Chothia - CDR L2
接觸 - CDR L2

圖7A

VL 序列

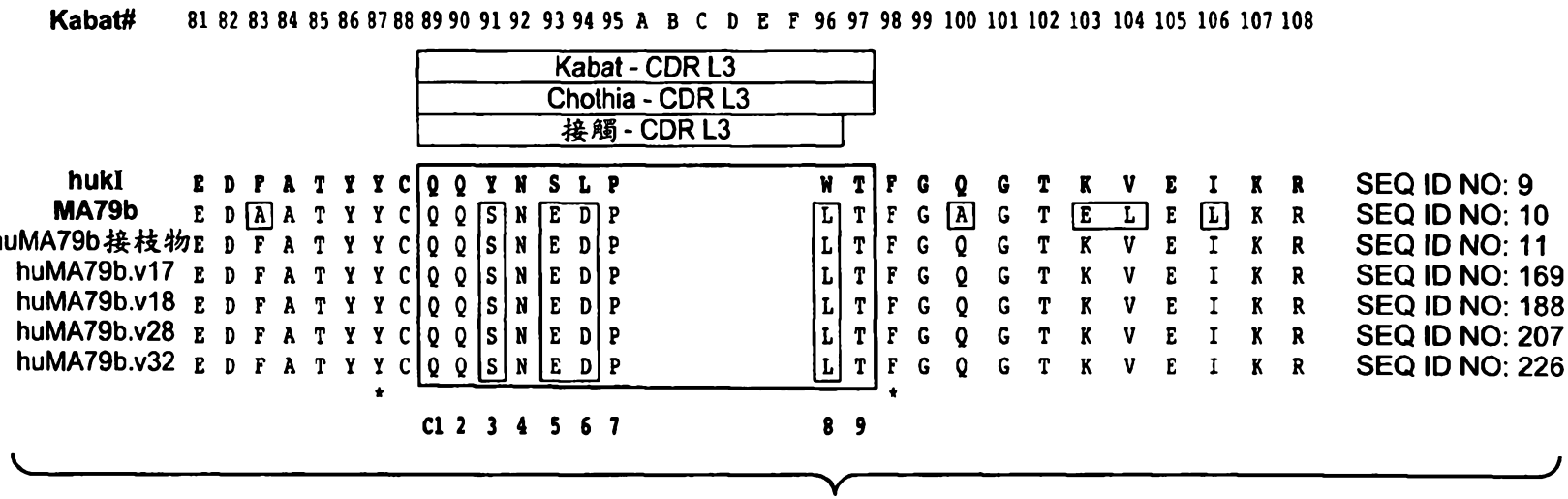

Kabat#
81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 A B C D E F 96 97 98 99 100 101 102 103 104 105 106 107 108
Kabat - CDR L3
Chothia - CDR L3
接觸 - CDR L3
hukI E D F A T Y Y C Q Q Y N S L P W T F G Q G T K V E I K R SEQ ID NO: 9
MA79b E D A A T Y Y C Q Q S N E D P L T F G A G T E L E L K R SEQ ID NO: 10
huMA79b接枝物 E D F A T Y Y C Q Q S N E D P L T F G Q G T K V E I K R SEQ ID NO: 11
huMA79b.v17 E D F A T Y Y C Q Q S N E D P L T F G Q G T K V E I K R SEQ ID NO: 169
huMA79b.v18 E D F A T Y Y C Q Q S N E D P L T F G Q G T K V E I K R SEQ ID NO: 188
huMA79b.v28 E D F A T Y Y C Q Q S N E D P L T F G Q G T K V E I K R SEQ ID NO: 207
huMA79b.v32 E D F A T Y Y C Q Q S N E D P L T F G Q G T K V E I K R SEQ ID NO: 226
C1 2 3 4 5 6 7 8 9

圖7B

VH 序列

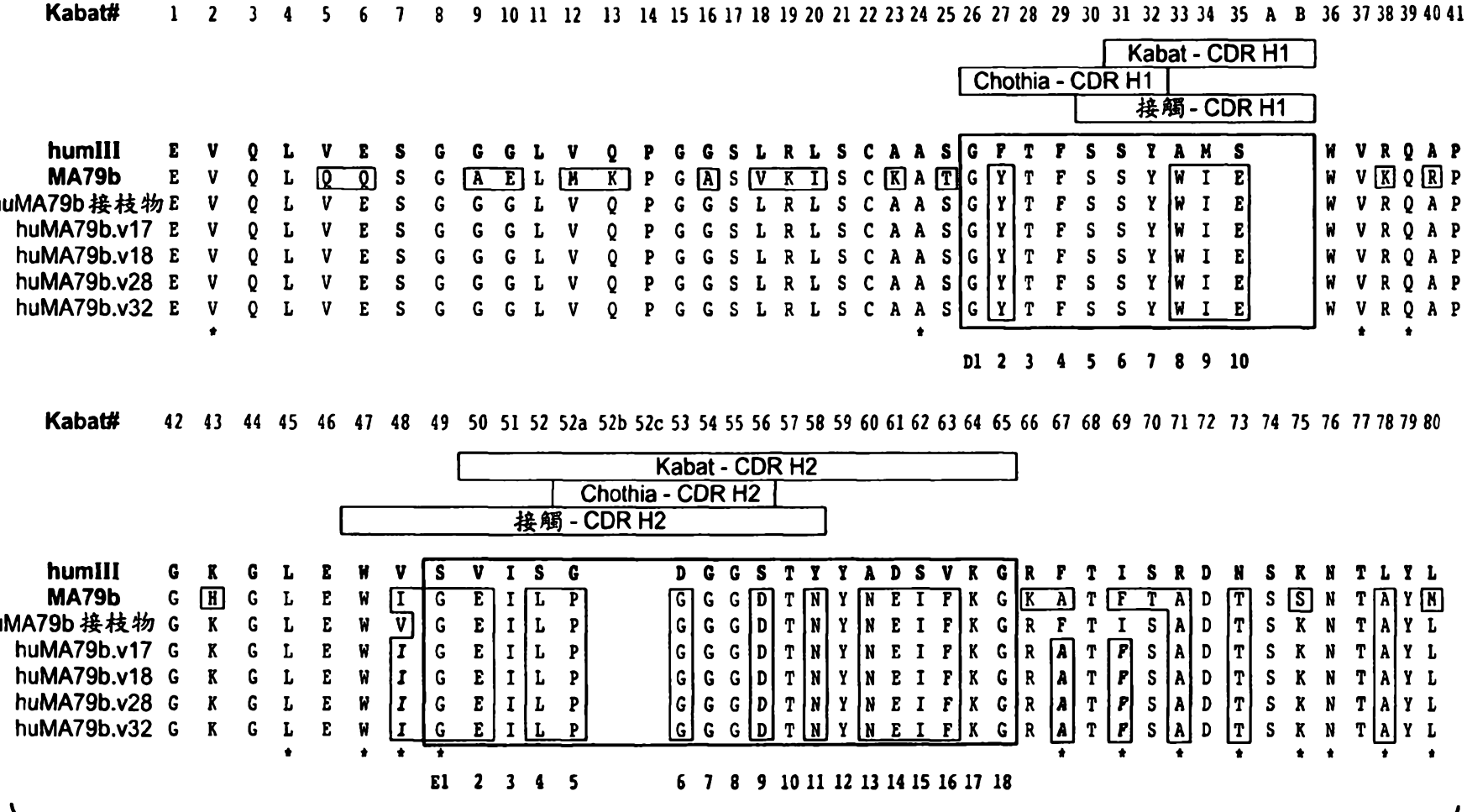
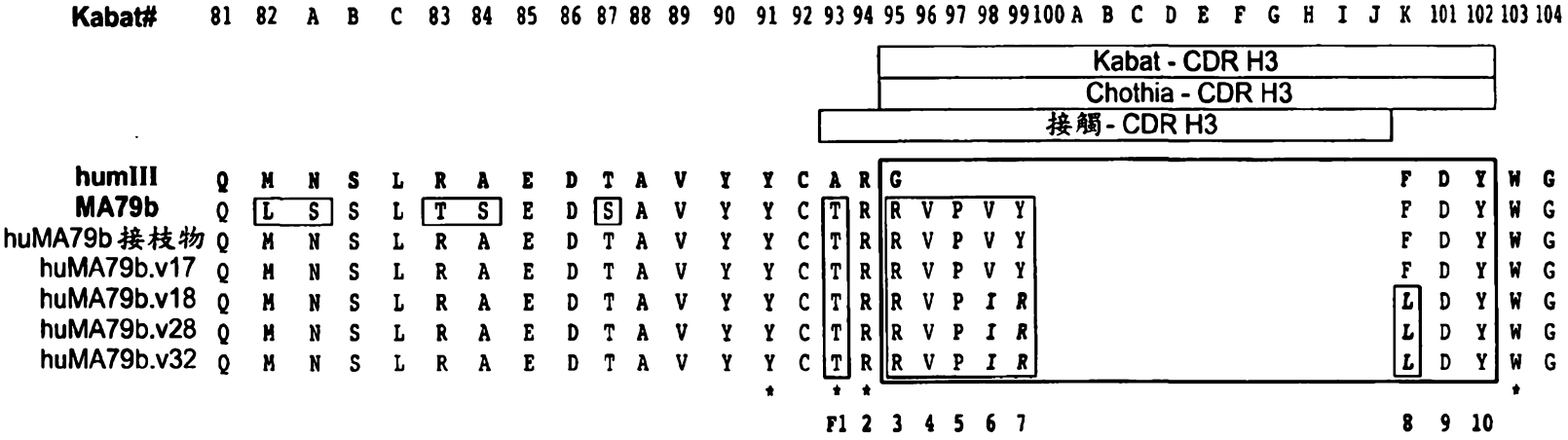

Kabat - CDR H1
Chothia - CDR H1
接觸 - CDR H1
Kabat - CDR H2
Chothia - CDR H2
接觸 - CDR H2
humIII
MA79b
huMA79b 接枝物
huMA79b.v17
huMA79b.v18
huMA79b.v28
huMA79b.v32

圖8A

VH序列



	Kabat#	81	82	A	B	C	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	101	102	103	104
																	F1	2	3	4	5	6	7											8	9	10			
humIII		Q	M	N	S	L	R	A	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	G														F	D	Y	W	G
MA79b		Q	L	S	S	L	T	S	E	D	S	A	V	Y	Y	C	T	R	R	V	P	V	Y										F	D	Y	W	G
huMA79b接枝物		Q	M	N	S	L	R	A	E	D	T	A	V	Y	Y	C	T	R	R	V	P	V	Y										F	D	Y	W	G
huMA79b.v17		Q	M	N	S	L	R	A	E	D	T	A	V	Y	Y	C	T	R	R	V	P	V	Y										F	D	Y	W	G
huMA79b.v18		Q	M	N	S	L	R	A	E	D	T	A	V	Y	Y	C	T	R	R	V	P	I	R										L	D	Y	W	G
huMA79b.v28		Q	M	N	S	L	R	A	E	D	T	A	V	Y	Y	C	T	R	R	V	P	I	R										L	D	Y	W	G
huMA79b.v32		Q	M	N	S	L	R	A	E	D	T	A	V	Y	Y	C	T	R	R	V	P	I	R										L	D	Y	W	G

	Kabat#	105	106	107	108	109	110	111	112	113	
humIII		Q	G	T	L	V	T	V	S	S	SEQ ID NO: 13
MA79b		Q	G	T	S	V	T	V	S	S	SEQ ID NO: 14
huMA79b接枝物		Q	G	T	L	V	T	V	S	S	SEQ ID NO: 15
huMA79b.v17		Q	G	T	L	V	T	V	S	S	SEQ ID NO: 170
huMA79b.v18		Q	G	T	L	V	T	V	S	S	SEQ ID NO: 189
huMA79b.v28		Q	G	T	L	V	T	V	S	S	SEQ ID NO: 208
huMA79b.v32		Q	G	T	L	V	T	V	S	S	SEQ ID NO: 227

圖8B

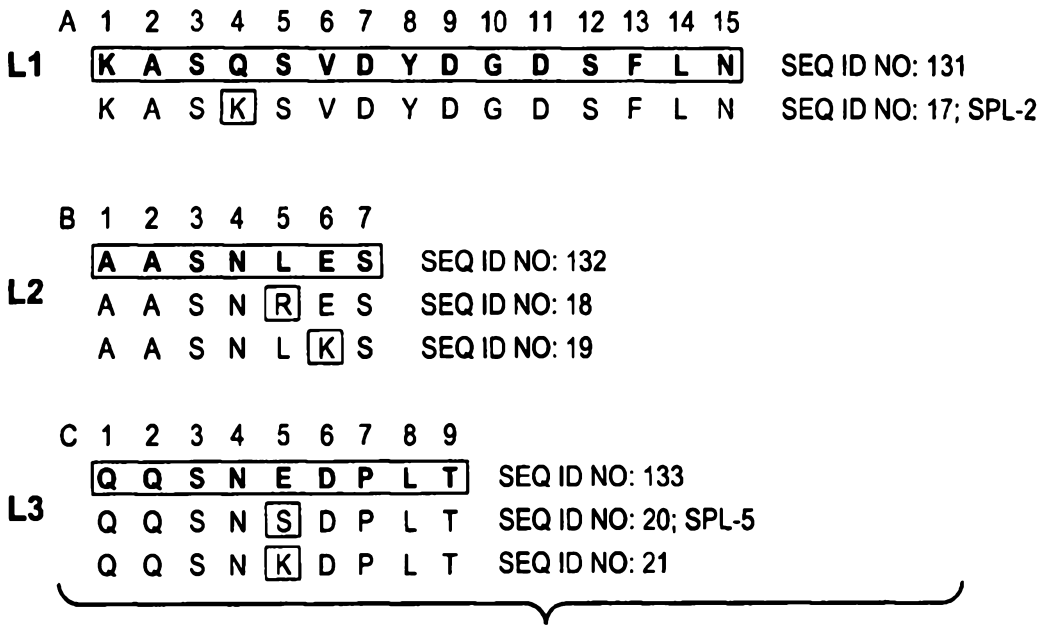


圖9

	Biacore KD (nM)		
MA79b 變異體 IgG	Fab	IgG	經固定之抗原
MA79b	200	2	hu CD79b.ecd-Fc
		4.7	hu CD79b.ecd
hu MA79b 接枝物		261	hu CD79b.ecd
hu MA79b L2-2	44		hu CD79b.ecd-Fc
	39	43	hu CD79b.ecd
hu MA79b H3-10		29	hu CD79b.ecd
hu MA79b H1-6		42	hu CD79b.ecd
hu MA79b L2/H3		2	hu CD79b.ecd-Fc
		3	hu CD79b.ecd
		1	16mer 肽

圖11

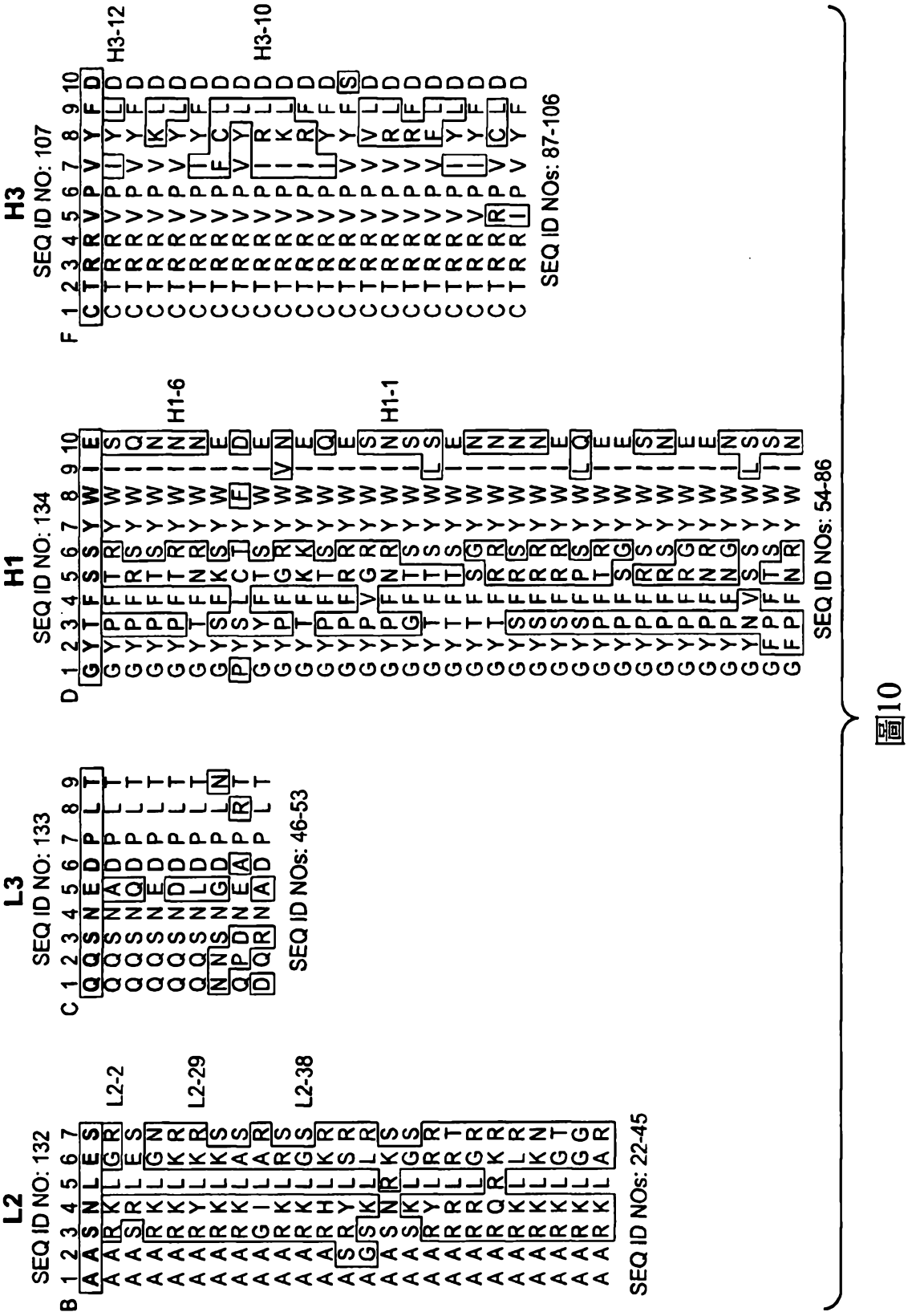

L2
SEQ ID NO: 132
L3
SEQ ID NO: 133
H1
SEQ ID NO: 134
H3
SEQ ID NO: 107
L2-2
L2-29
L2-38
H1-6
H1-1
H3-12
H3-10
SEQ ID NOs: 22-45
SEQ ID NOs: 46-53
SEQ ID NOs: 54-86
SEQ ID NOs: 87-106

圖10

	所存在之鼠類構架殘基									VL之穩定性變化					二價結合倍數
huMA79 FW 變異體 IgG	VL 4	47	48	67	69	VH 71	73	75	78	80	28	29	94	95	CDR-H3 序列	$Kd_{變異體}$ / $Kd_{供合體}$
huMA79接枝物						71	73		78						wt	56
所有構架	4	47	48	67	69	71	73	75	78	80					wt	1
1			48			71	73		78						wt	9.4
2		47				71	73		78						wt	18
3				67	69	71	73	75	78	80					wt	5.5
4					69	71	73	75	78	80					wt	12
5			48	67	69	71	73	75	78	80					wt	3.5
6			48	67		71	73		78						wt	7.6
7			48		69	71	73		78						wt	3.5
8			48	67	69	71	73		78						wt	1.7
9			48	67	69	71	73		78	80					wt	1.8
10			48	67	69	71	73	75	78						wt	NA
11			48	67	69	71	73	75	78	80					H3-10	0.6
12			48	67	69	71	73		78						H3-10	0.5
13		47	48		69	71	73		78						wt	1.8
14	4		48		69	71	73		78						wt	1.1
15	4	47	48		69	71	73		78						wt	0.8
16	4		48	67		71	73		78						wt	1.6
17	4		48	67	69	71	73		78						wt	1.0
18	4		48	67	69	71	73		78						H3-10	0.4
19	4		48	67	69	71	73		78		S		E		H3-10	NDB
20	4		48	67	69	71	73		78		S		N		H3-10	NDB
21	4		48	67	69	71	73		78		E		E		H3-10	NDB
22	4		48	67	69	71	73		78		E		N		H3-10	NDB
23	4	47	48	67	69	71	73		78		S		E		H3-10	25
24	4	47	48	67	69	71	73		78		S		N		H3-10	NDB
25	4	47	48	67	69	71	73		78		E		E		H3-10	NDB
26	4	47	48	67	69	71	73		78		E		N		H3-10	NDB
27	4	47	48	67	69	71	73		78						H3-10	
28	4		48	67	69	71	73		78		E				H3-10	0.8
29			48	67	69	71	73		78				N		H3-10	極弱
30	4	47	48	67	69	71	73		78			A			H3-10	1.3
31	4	47	48	67	69	71	73		78			S			H3-10	1.0
32	4	47	48	67	69	71	73		78		S				H3-10	1.6
33	4	47	48	67	69	71	73		78					A	H3-10	極弱
34	4	47	48	67	69	71	73		78				E		H3-10	NDB

圖12

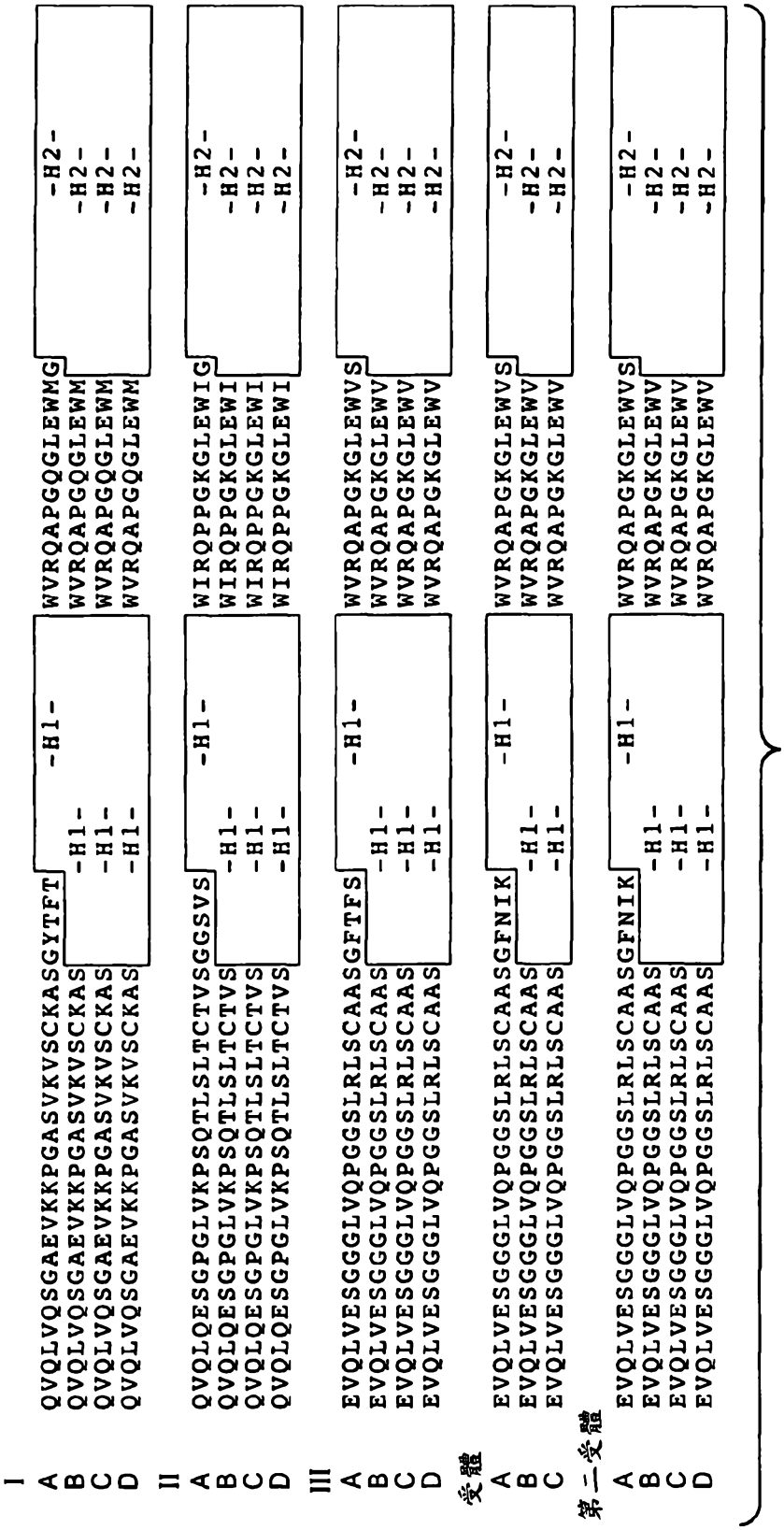

I
A QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT -H1- WVRQAPGQGLEWMG -H2-
B QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS -H1- WVRQAPGQGLEWM -H2-
C QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS -H1- WVRQAPGQGLEWM -H2-
D QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS -H1- WVRQAPGQGLEWM -H2-
II
A QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSVS -H1- WIRQPPGKGLEWIG -H2-
B QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVS -H1- WIRQPPGKGLEWI -H2-
C QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVS -H1- WIRQPPGKGLEWI -H2-
D QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVS -H1- WIRQPPGKGLEWI -H2-
III
A EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS -H1- WVRQAPGKGLEWVS -H2-
B EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS -H1- WVRQAPGKGLEWV -H2-
C EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS -H1- WVRQAPGKGLEWV -H2-
D EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS -H1- WVRQAPGKGLEWV -H2-
受體
A EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIK -H1- WVRQAPGKGLEWVS -H2-
B EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS -H1- WVRQAPGKGLEWV -H2-
C EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS -H1- WVRQAPGKGLEWV -H2-
第二受體
A EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIK -H1- WVRQAPGKGLEWVS -H2-
B EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS -H1- WVRQAPGKGLEWV -H2-
C EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS -H1- WVRQAPGKGLEWV -H2-
D EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS -H1- WVRQAPGKGLEWV -H2-

圖13A

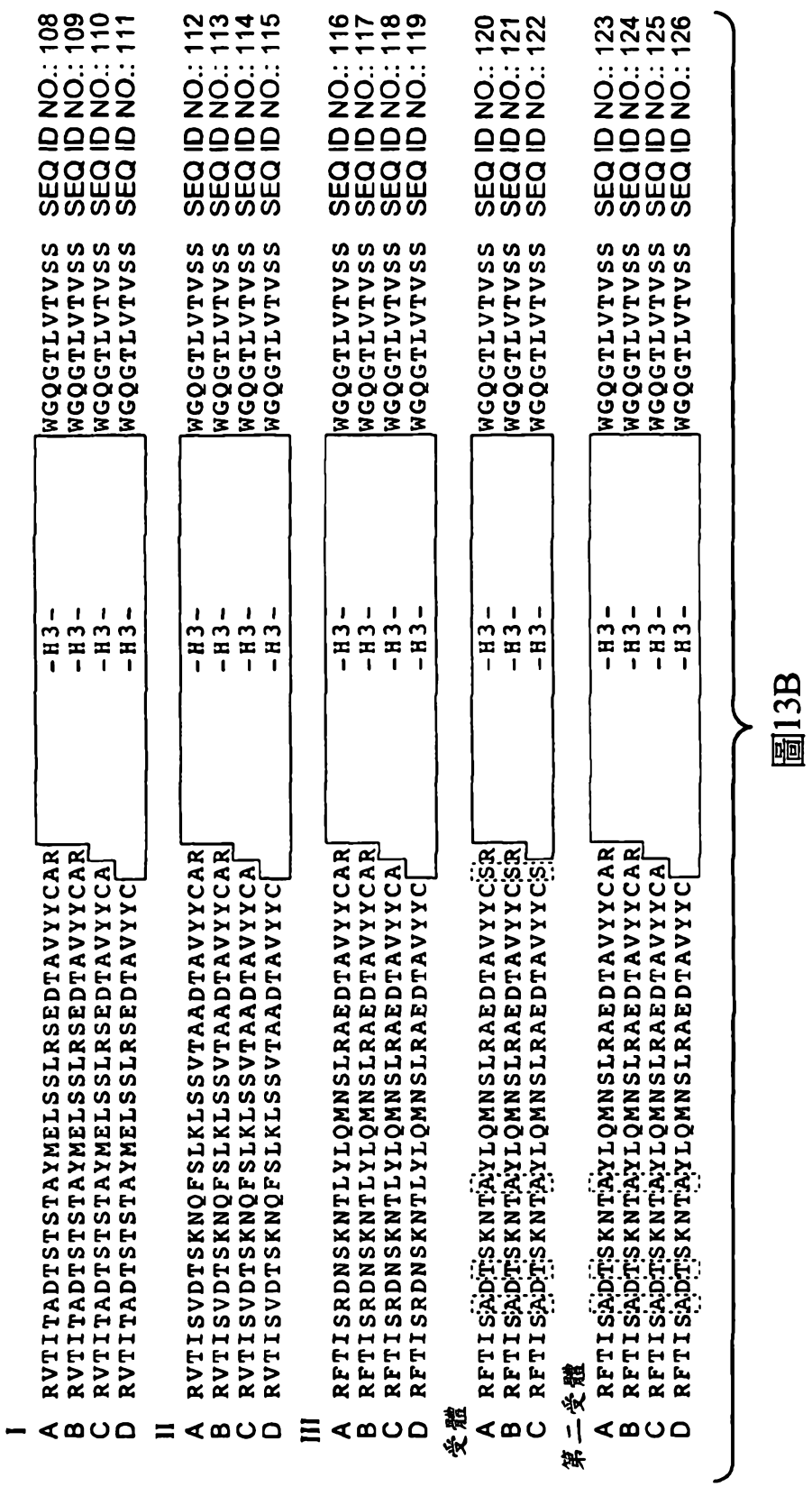

I
A RVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR -H3- WGQGTLVTVSS SEQ ID NO.: 108
B RVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR -H3- WGQGTLVTVSS SEQ ID NO.: 109
C RVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA -H3- WGQGTLVTVSS SEQ ID NO.: 110
D RVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC -H3- WGQGTLVTVSS SEQ ID NO.: 111
II
A RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR -H3- WGQGTLVTVSS SEQ ID NO.: 112
B RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR -H3- WGQGTLVTVSS SEQ ID NO.: 113
C RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCA -H3- WGQGTLVTVSS SEQ ID NO.: 114
D RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC -H3- WGQGTLVTVSS SEQ ID NO.: 115
III
A RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR -H3- WGQGTLVTVSS SEQ ID NO.: 116
B RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR -H3- WGQGTLVTVSS SEQ ID NO.: 117
C RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA -H3- WGQGTLVTVSS SEQ ID NO.: 118
D RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC -H3- WGQGTLVTVSS SEQ ID NO.: 119
受體
A RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSR -H3- WGQGTLVTVSS SEQ ID NO.: 120
B RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSR -H3- WGQGTLVTVSS SEQ ID NO.: 121
C RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCS -H3- WGQGTLVTVSS SEQ ID NO.: 122
第二受體
A RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR -H3- WGQGTLVTVSS SEQ ID NO.: 123
B RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR -H3- WGQGTLVTVSS SEQ ID NO.: 124
C RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCA -H3- WGQGTLVTVSS SEQ ID NO.: 125
D RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYC -H3- WGQGTLVTVSS SEQ ID NO.: 126

圖13B

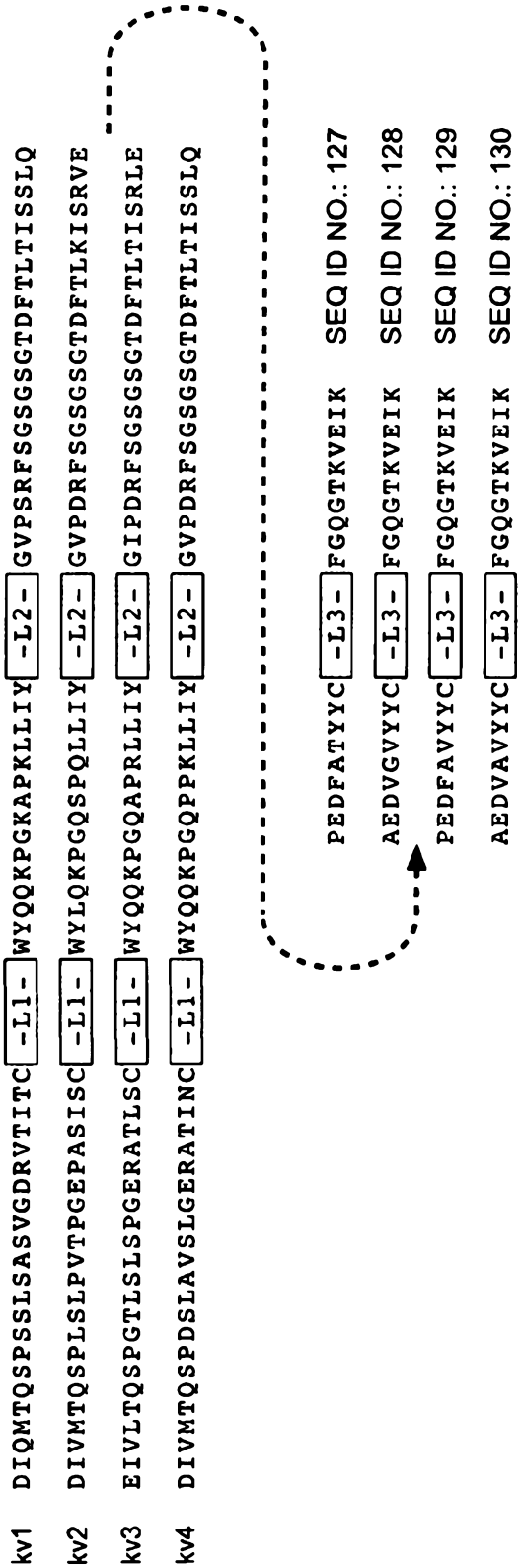

kv1 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC -L1- WYQQKPGKAPKLLIY -L2- GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ
kv2 DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC -L1- WYLQKPGQSPQLLIY -L2- GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVE
kv3 EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC -L1- WYQQKPGQAPRLLIY -L2- GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLE
kv4 DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC -L1- WYQQKPGQPPKLLIY -L2- GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQ
PEDFATYYC -L3- FGQGTKVEIK SEQ ID NO.: 127
AEDVGVYYC -L3- FGQGTKVEIK SEQ ID NO.: 128
PEDFAVYYC -L3- FGQGTKVEIK SEQ ID NO.: 129
AEDVAVYYC -L3- FGQGTKVEIK SEQ ID NO.: 130

圖14

A. huMA79b.v17 輕鏈

FR1-LC: DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO: 152)
FR2-LC: WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO: 153)
FR3-LC: GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO: 154)
FR4-LC: FGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 155)
HVR1-LC: KASQSVDYDGDSFLN (SEQ ID NO: 156)
HVR2-LC: AASNLES (SEQ ID NO: 157)
HVR3-LC: QQSNEDPLT (SEQ ID NO: 158)
CL1: TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK
DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 159)

輕鏈:
DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVDYDGDSFLNWYQQKPGKAPKLLIYAASNLESGVPSRFSGS
GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC
LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS
PVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 303)

LC-可變域:
DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVDYDGDSFLNWYQQKPGKAPKLLIYAASNLESGVPSRFSGS
GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPLTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 169)

B. huMA79b.v17 重鏈

FR1-HC: EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (SEQ ID NO: 160)
FR2-HC: WVRQAPGKGLEWI (SEQ ID NO: 161)
FR3-HC: RATFSADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYC (SEQ ID NO: 162)
FR4-HC: WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 163)
HVR1-HC: GYTFSSYWIE (SEQ ID NO: 164)
HVR2-HC: GEILPGGGDTNYNEIFKG (SEQ ID NO: 165)
HVR3-HC: TRRVPVYFDY (SEQ ID NO: 166)
CH1: ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT
(SEQ ID NO:167)
Fc: CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL
YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 168)

重鏈:
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSSYWIEWVRQAPGKGLEWIGEILPGGGDTNYNEIFKGRAT
FSADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRVPVYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG
TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS
NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 304)

HC-可變域:
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSSYWIEWVRQAPGKGLEWIGEILPGGGDTNYNEIFKGRAT
FSADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRVPVYFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 170)

圖15

A. huMA79b.v18 輕鏈

FR1-LC: DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO: 171)
FR2-LC: WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO: 172)
FR3-LC: GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO: 173)
FR4-LC: FGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 174)
HVR1-LC: KASQSVDYDGDSFLN (SEQ ID NO: 175)
HVR2-LC: AASNLES (SEQ ID NO: 176)
HVR3-LC: QQSNEDPLT (SEQ ID NO: 177)
CL1: TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK
DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 178)

輕鏈:
DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVDYDGDSFLNWYQQKPGKAPKLLIYAASNLESGVPSRFSGS
GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC
LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS
PVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 305)

LC-可變域:
DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVDYDGDSFLNWYQQKPGKAPKLLIYAASNLESGVPSRFSGS
GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPLTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 188)

B. huMA79b.v18 重鏈

FR1-HC: EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (SEQ ID NO: 179)
FR2-HC: WVRQAPGKGLEWI (SEQ ID NO: 180)
FR3-HC: RATFSADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYC (SEQ ID NO: 181)
FR4-HC: WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 182)
HVR1-HC: GYTFSSYWIE (SEQ ID NO: 183)
HVR2-HC: GEILPGGGDTNYNEIFKG (SEQ ID NO: 184)
HVR3-HC: TRRVPIRLDY (SEQ ID NO: 185)
CH1: ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT
(SEQ ID NO: 186)
Fc: CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL
YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 187)

重鏈:
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSSYWIEWVRQAPGKGLEWIGEILPGGGDTNYNEIFKGRAT
FSADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRVPIRLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG
TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS
NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 306)

HC-可變域:
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSSYWIEWVRQAPGKGLEWIGEILPGGGDTNYNEIFKGRAT
FSADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRVPIRLDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 189)

圖16

A. huMA79b.v28 輕鏈

FR1-LC: DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO: 190)
FR2-LC: WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO: 191)
FR3-LC: GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO: 192)
FR4-LC: FGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 193)
HVR1-LC: KASQSVDYEGDSFLN (SEQ ID NO: 194)
HVR2-LC: AASNLES (SEQ ID NO: 195)
HVR3-LC: QQSNEDPLT (SEQ ID NO: 196)
CL1: TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 197)

輕鏈:
DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVDYEGDSFLNWYQQKPGKAPKLLIYAASNLESGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 307)

B. huMA79b.v28 重鏈

FR1-HC: EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (SEQ ID NO: 198)
FR2-HC: WVRQAPGKGLEWI (SEQ ID NO: 199)
FR3-HC: RATFSADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYC (SEQ ID NO: 200)
FR4-HC: WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 201)
HVR1-HC: GYTFSSYWIE (SEQ ID NO: 202)
HVR2-HC: GEILPGGGDTNYNEIFKG (SEQ ID NO: 203)
HVR3-HC: TRRVPIRLDY (SEQ ID NO: 204)
CH1: ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 205)
Fc: CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 206)

重鏈:
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSSYWIEWVRQAPGKGLEWIGEILPGGGDTNYNEIFKGRA TFSADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRVPIRLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 308)

圖17

A. huMA79b.v32 輕鏈

FR1-LC: DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO: 209)
FR2-LC: WYQQKPGKAPKLFIY (SEQ ID NO: 210)
FR3-LC: GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO: 211)
FR4-LC: FGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 212)
HVR1-LC: KASQSVDYSGDSFLN (SEQ ID NO: 213)
HVR2-LC: AASNLES (SEQ ID NO: 214)
HVR3-LC: QQSNEDPLT (SEQ ID NO: 215)
CL1: TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK
DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 216)

輕鏈:
DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVDYSGDSFLNWYQQKPGKAPKLFIYAASNLESGVPSRFSGS
GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC
LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS
PVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 309)

LC-可變域:
DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVDYSGDSFLNWYQQKPGKAPKLFIYAASNLESGVPSRFSGS
GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPLTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 226)

B. huMA79b.v32 重鏈

FR1-HC: EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (SEQ ID NO: 217)
FR2-HC: WVRQAPGKGLEWI (SEQ ID NO: 218)
FR3-HC: RATFSADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYC (SEQ ID NO: 219)
FR4-HC: WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 220)
HVR1-HC: GYTFSSYWIE (SEQ ID NO: 221)
HVR2-HC: GEILPGGGDTNYNEIFKG (SEQ ID NO: 222)
HVR3-HC: TRRVPIRLDY (SEQ ID NO: 223)
CH1: ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT
(SEQ ID NO: 224)
Fc: CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL
YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 225)

重鏈:
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSSYWIEWVRQAPGKGLEWIGEILPGGGDTNYNEIFKGRAT
FSADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRVPIRLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG
TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS
NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 310)

HC-可變域:
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSSYWIEWVRQAPGKGLEWIGEILPGGGDTNYNEIFKGRAT
FSADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRVPIRLDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 227)

圖18

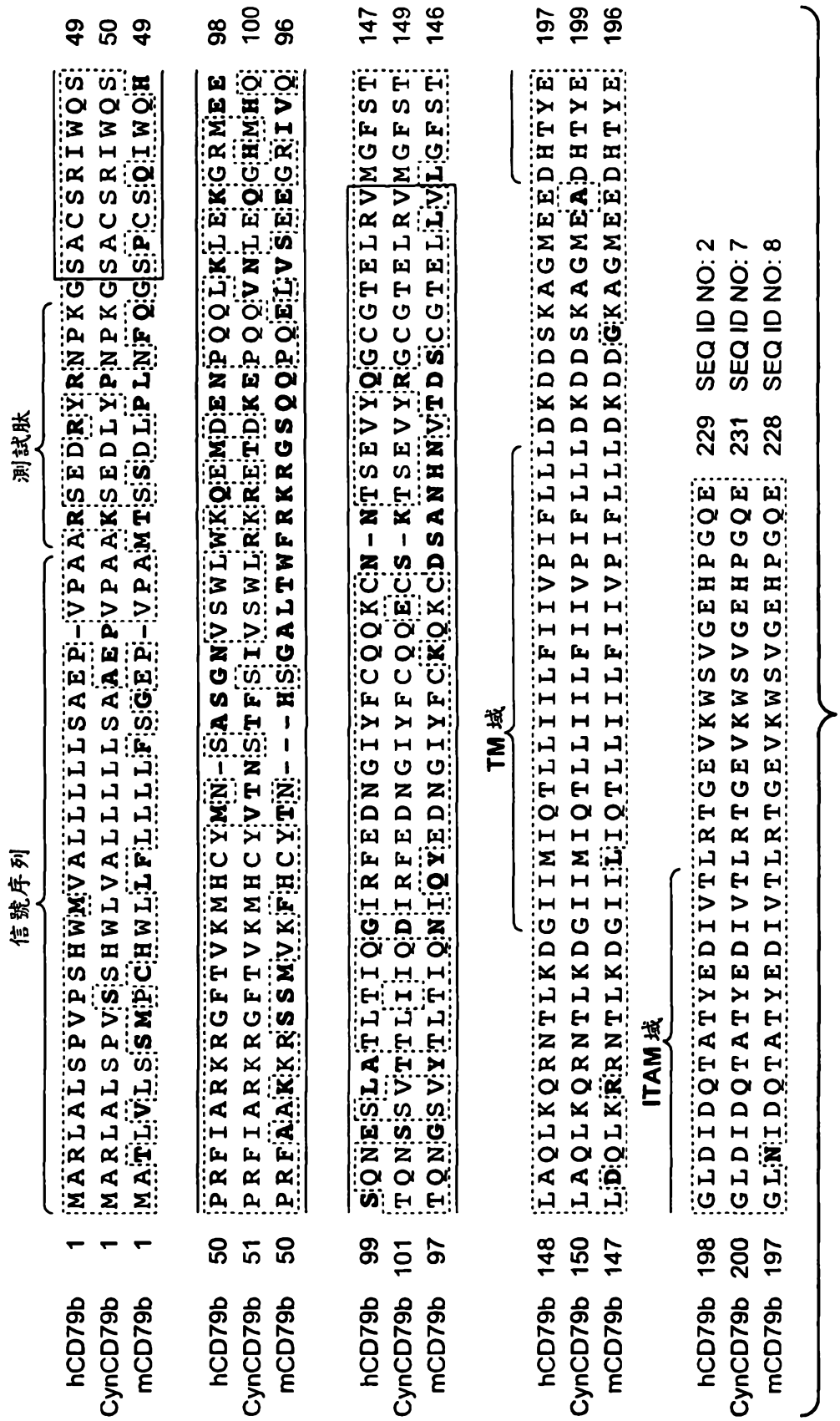

信號序列
測試肽
TM域
ITAM域
hCD79b 1 MARLALSPVPSHWMVALLLLSAEP-VPAARSEDRYRNPKGSACSRIWQS 49
CynCD79b 1 MARLALSPVSSHWLVALLLLSAAEPVPAAKSEDLYPNPKGSACSRIWQS 50
mCD79b 1 MATLVLSSMPCHWLLFLLLLFSGEP-VPAMTSSDLPLNFQGSPCSQIWQH 49
hCD79b 50 PRFIARKRGFTVKMHCYMN-SASGNVSWLWKQEMDENPQQLKLEKGRMEE 98
CynCD79b 51 PRFIARKRGFTVKMHCYVTNSTFSIVSWLRKRETDKEPQQVNLEQGHMHQ 100
mCD79b 50 PRFAAKKRSSMVKFHCYTN---HSGALTWFRKRGSQQPQELVSEEGRIVQ 96
hCD79b 99 SQNESLATLTIQGIRFEDNGIYFCQQKCN-NTSEVYQGCGTELRVMGFST 147
CynCD79b 101 TQNSSVTTLIIQDIRFEDNGIYFCQQECS-KTSEVYRGCGTELRVMGFST 149
mCD79b 97 TQNGSVYTLTIQNIQYEDNGIYFCKQKCDSANHNVTDSCGTELLVLGFST 146
hCD79b 148 LAQLKQRNTLKDGIIMIQTLLIIILFIIVPIFLLLDKDDSKAGMEEDHTYE 197
CynCD79b 150 LAQLKQRNTLKDGIIMIQTLLIIILFIIVPIFLLLDKDDSKAGMEADHTYE 199
mCD79b 147 LDQLKRRNTLKDGIILIQTLLIIILFIIVPIFLLLDKDDGKAGMEEDHTYE 196
hCD79b 198 GLDIDQTATYEDIVTLRTGEVKWSVGEHPGQE 229 SEQ ID NO: 2
CynCD79b 200 GLDIDQTATYEDIVTLRTGEVKWSVGEHPGQE 231 SEQ ID NO: 7
mCD79b 197 GLNIDQTATYEDIVTLRTGEVKWSVGEHPGQE 228 SEQ ID NO: 8

圖19

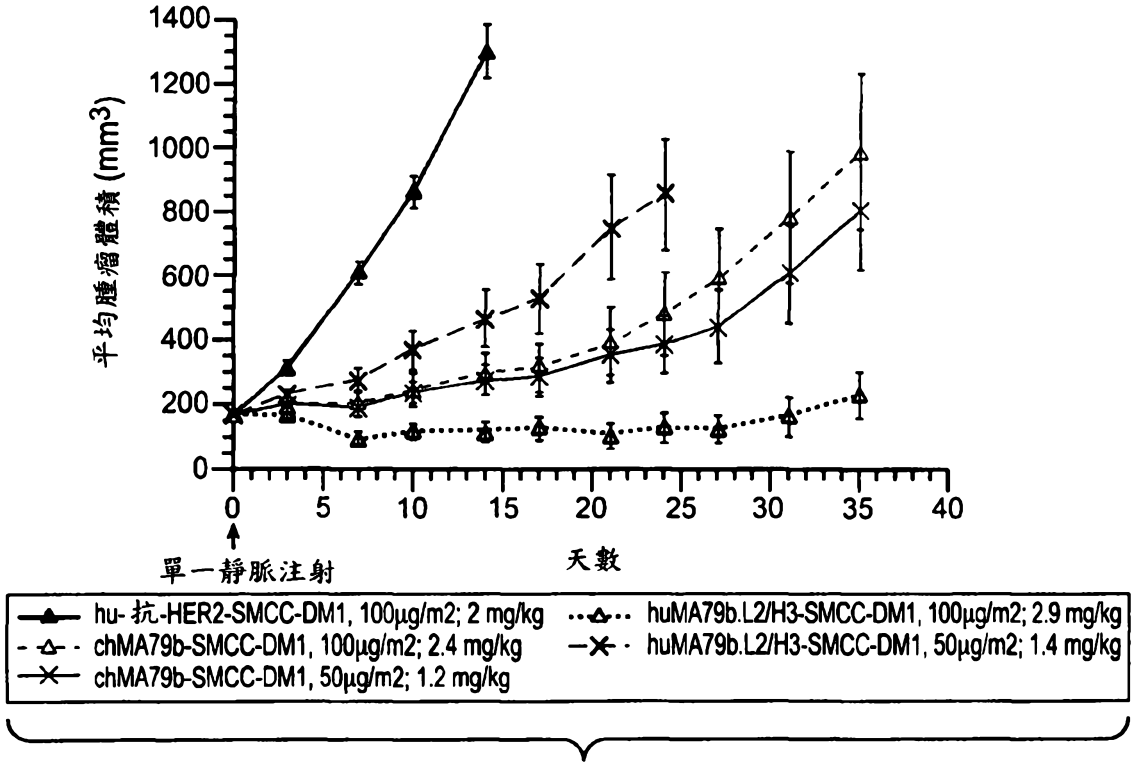

1400
1200
1000
800
600
400
200
0
平均腫瘤體積 (mm3)
0
5
10
15
20
25
30
35
40
單一靜脈注射
天數
hu-抗-HER2-SMCC-DM1, 100μg/m2; 2 mg/kg
chMA79b-SMCC-DM1, 100μg/m2; 2.4 mg/kg
chMA79b-SMCC-DM1, 50μg/m2; 1.2 mg/kg
huMA79b.L2/H3-SMCC-DM1, 100μg/m2; 2.9 mg/kg
huMA79b.L2/H3-SMCC-DM1, 50μg/m2; 1.4 mg/kg

圖20

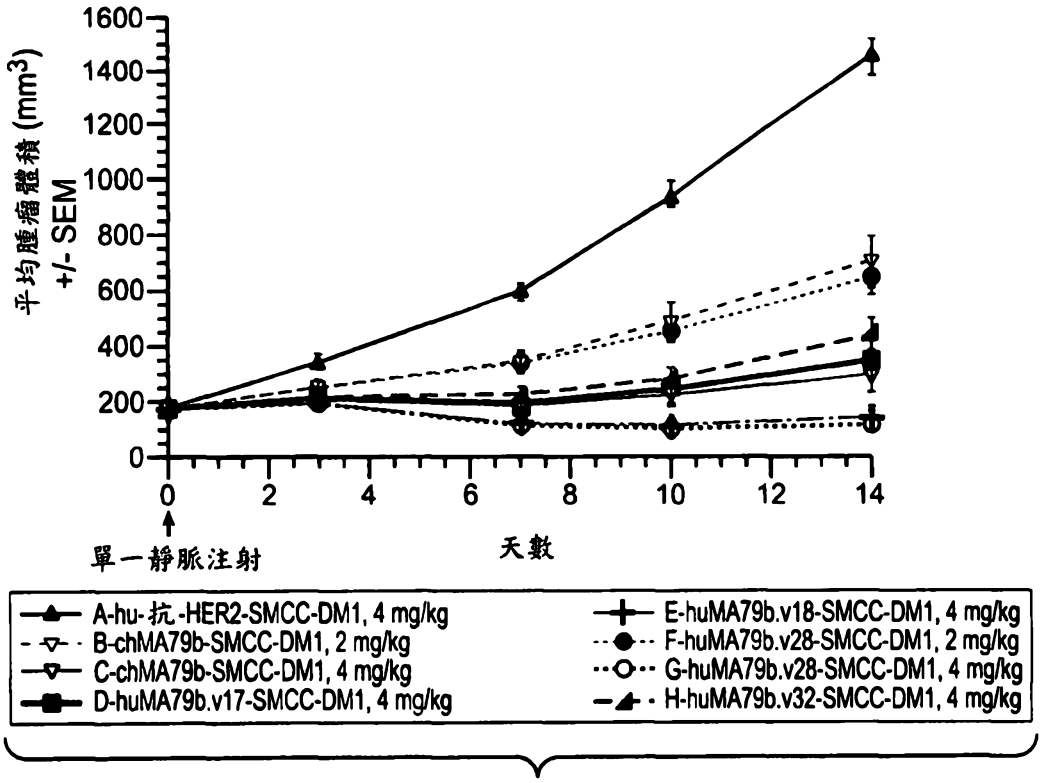

平均腫瘤體積 (mm^3)
+/- SEM
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
0
2
4
6
8
10
12
14
天數
單一靜脈注射
A-hu-抗-HER2-SMCC-DM1, 4 mg/kg
B-chMA79b-SMCC-DM1, 2 mg/kg
C-chMA79b-SMCC-DM1, 4 mg/kg
D-huMA79b.v17-SMCC-DM1, 4 mg/kg
E-huMA79b.v18-SMCC-DM1, 4 mg/kg
F-huMA79b.v28-SMCC-DM1, 2 mg/kg
G-huMA79b.v28-SMCC-DM1, 4 mg/kg
H-huMA79b.v32-SMCC-DM1, 4 mg/kg

圖21A

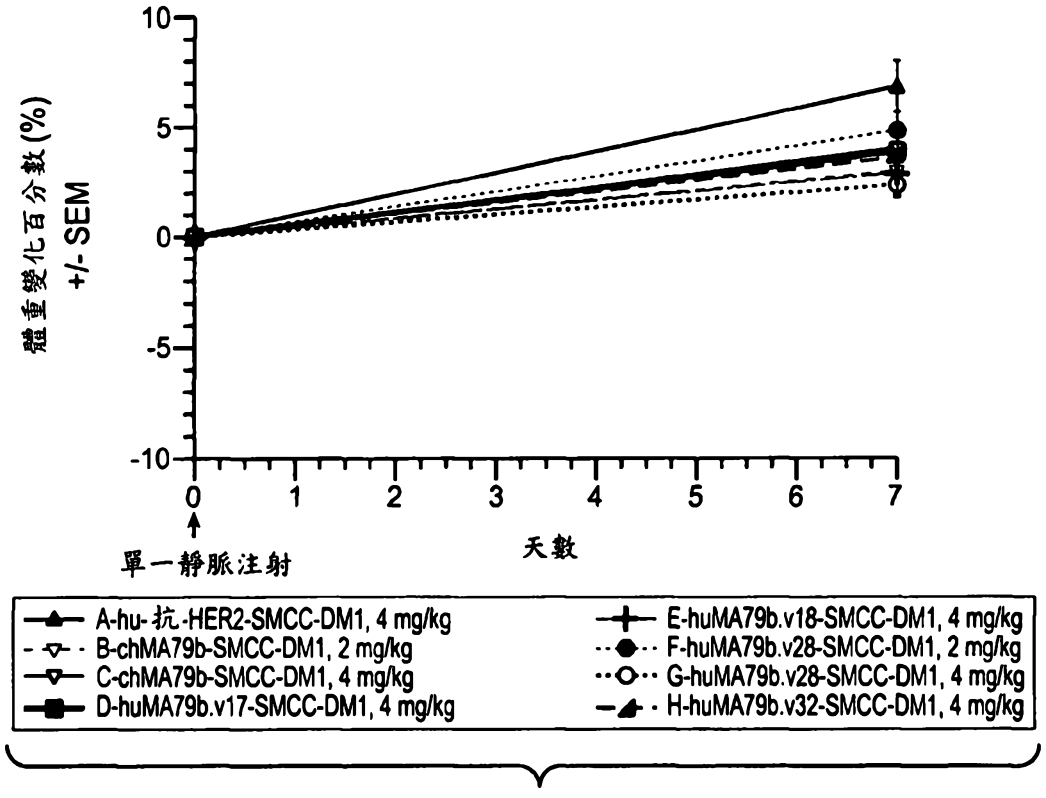

體重變化百分數 (%)
+/- SEM
10
5
0
-5
-10
0
1
2
3
4
5
6
7
天數
單一靜脈注射
A-hu-抗-HER2-SMCC-DM1, 4 mg/kg
B-chMA79b-SMCC-DM1, 2 mg/kg
C-chMA79b-SMCC-DM1, 4 mg/kg
D-huMA79b.v17-SMCC-DM1, 4 mg/kg
E-huMA79b.v18-SMCC-DM1, 4 mg/kg
F-huMA79b.v28-SMCC-DM1, 2 mg/kg
G-huMA79b.v28-SMCC-DM1, 4 mg/kg
H-huMA79b.v32-SMCC-DM1, 4 mg/kg

圖21B

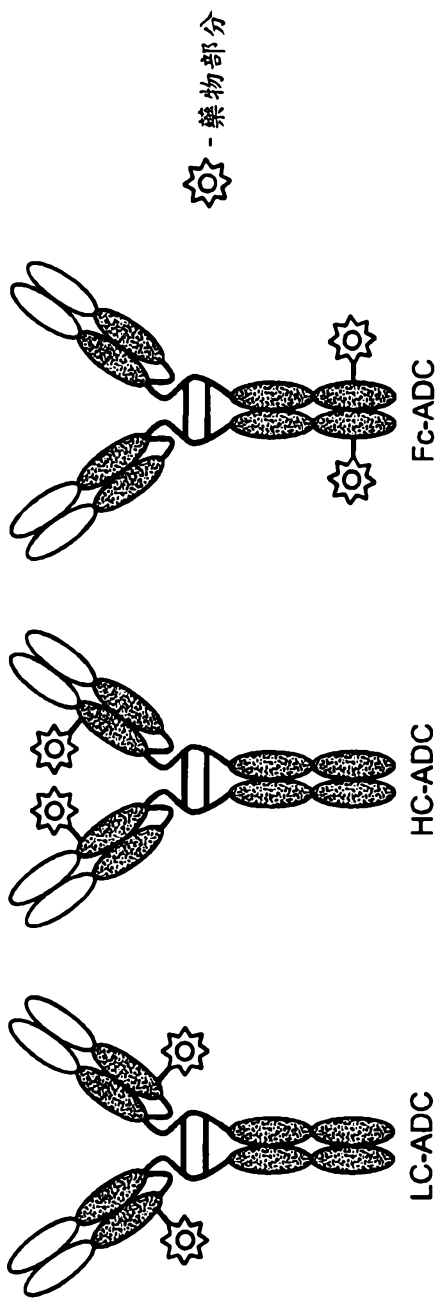


圖22

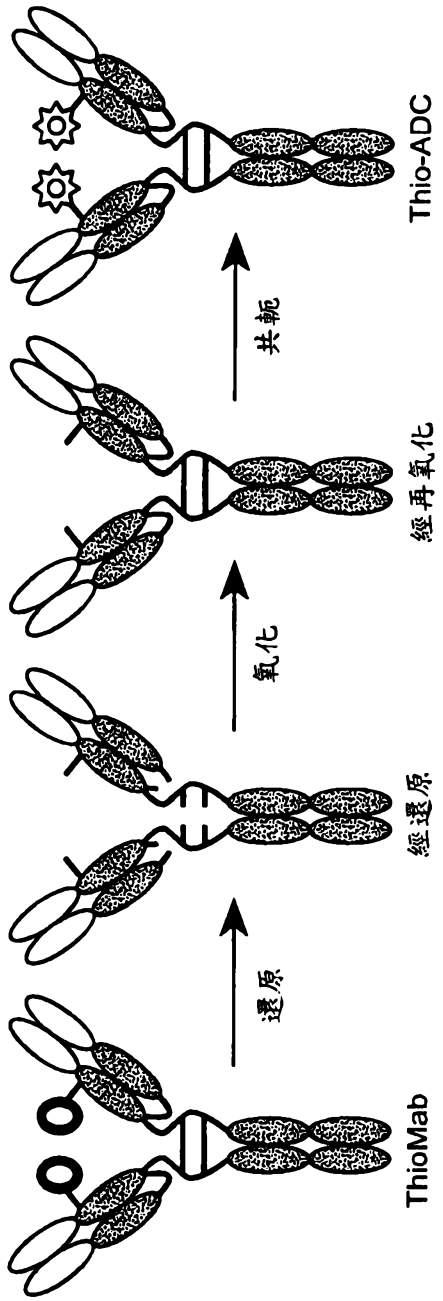


圖23

抗 -CD79b A118C huMA79b.v17 半胱胺酸工程化重鏈 ThioMAb

A. 輕鏈序列
Thio-huMA79b.v17-HC-A118C (LC)

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVDYDGDSFLNWYQQKPGKAPKLLIYAASNLESGVPSRFSGS
GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC
LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS
PVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 229)

B. 重鏈序列
Thio-huMA79b.v17-HC-A118C (HC)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSSYWIEWVRQAPGKGLEWIGEILPGGGDTNYNEIFKGRATFSAD
TSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRVPVYFDYWGQGTLVTVSSCSTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS
CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL
TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
(SEQ ID NO: 228)

圖24

抗-CD79b A118C huMA79b.v18 半胱胺酸工程化重鏈 ThioMAb

A. 輕鏈序列
Thio-huMA79b.v18-HC-A118C (LC)

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVDYDGDSFLNWYQQKPGKAPKLLIYAASNLESGVPSRFSGS
GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC
LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS
PVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 231)

B. 重鏈序列
Thio-huMA79b.v18-HC-A118C (HC)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSSYWIEWVRQAPGKGLEWIGEILPGGGDTNYNEIFKGRAT
FSADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRVPIRLDYWGQGTLVTVSSCSTKGPSVFPLAPSSKSTSGG
TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS
NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 230)

圖25

抗-CD79b A118C huMA79b.v28 半胱胺酸工程化重鏈 ThioMAb

A. 輕鏈序列
Thio-huMA79b.v28-HC-A118C (LC)

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVDYEGDSFLNWYQQKPGKAPKLLIYAASNLESGVPSRFSGS
GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC
LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS
PVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 233)

B. 重鏈序列
Thio-huMA79b.v28-HC-A118C (HC)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSSYWIEWVRQAPGKGLEWIGEILPGGGDTNYNEIFKGRAT
FSADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRVPIRLDYWGQGTLVTVSSCSTKGPSVFPLAPSSKSTSGG
TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS
NTKVDKKVEPKSCDKTHT*CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN*
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 232)

圖26

抗-CD79b V205C chMA79b 半胱胺酸工程化輕鏈 ThioMAb

A. 輕鏈序列
Thio chMA79b-LC-V205C (LC)

DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSFLNWYQQKPGQPPKLFIYAASNLESGIPARFSGS
GSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQQSNEDPLTFGAGTELELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC
LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS
PCTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 235)

B. 重鏈序列
Thio chMA79b-LC-V205C (HC)

EVQLQQSGAELMKPGASVKISCKATGYTFSSYWIEWVKQRPGHGLEWIGEILPGGGDTNYNEIFKGKAT
FTADTSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYYCTRRVPVYFDYWGQGTSVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG
TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS
NTKVDKKVEPKSCDKTHT*CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN*
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 234)

圖27

抗-CD79b A118C chMA79b 半胱胺酸工程化重鏈 ThioMAb

A. 輕鏈序列
Thio chMA79b-HC-A118C (LC)

DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSFLNWYQQKPGQPPKLFIYAASNLESGIPARFSGS
GSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQQSNEDPLTFGAGTELELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC
LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS
PVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 237)

B. 重鏈序列
Thio chMA79b-HC-A118C (HC)

EVQLQQSGAELMKPGASVKISCKATGYTFSSYWIEWVKQRPGHGLEWIGEILPGGGDTNYNEIFKGKAT
FTADTSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYYCTRRVPVYFDYWGQGTSVTVSSCSTKGPSVFPLAPSSKSTSGG
TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS
NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 236)

圖28

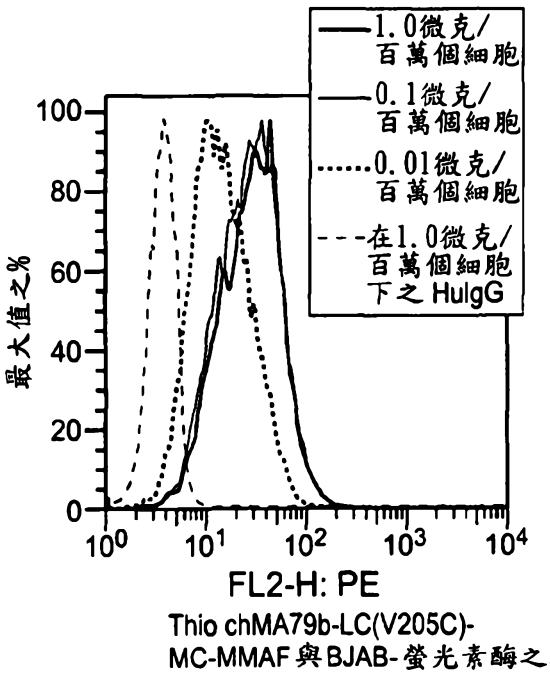

1.0微克/百萬個細胞
0.1微克/百萬個細胞
0.01微克/百萬個細胞
在1.0微克/百萬個細胞下之HulgG
最大值之%
FL2-H: PE
Thio chMA79b-LC(V205C)-MC-MMAF與BJAB-螢光素酶之結合

圖29A

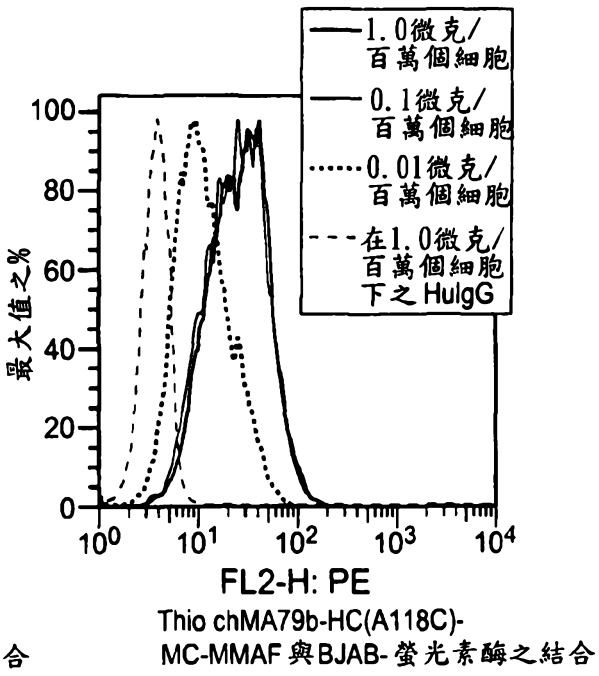
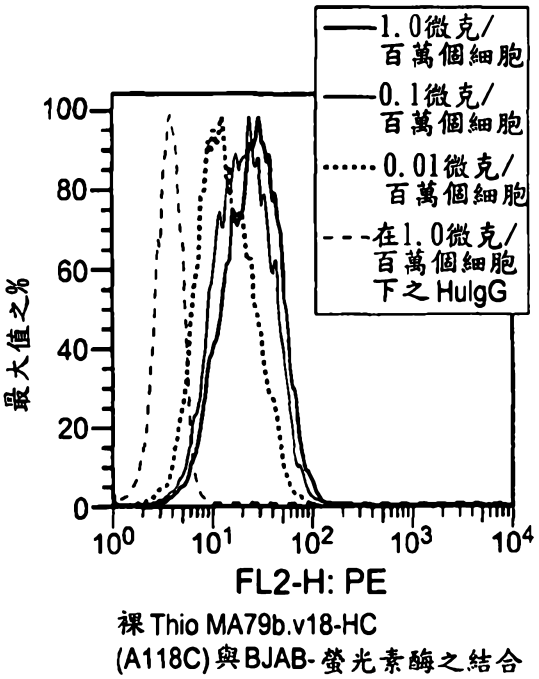
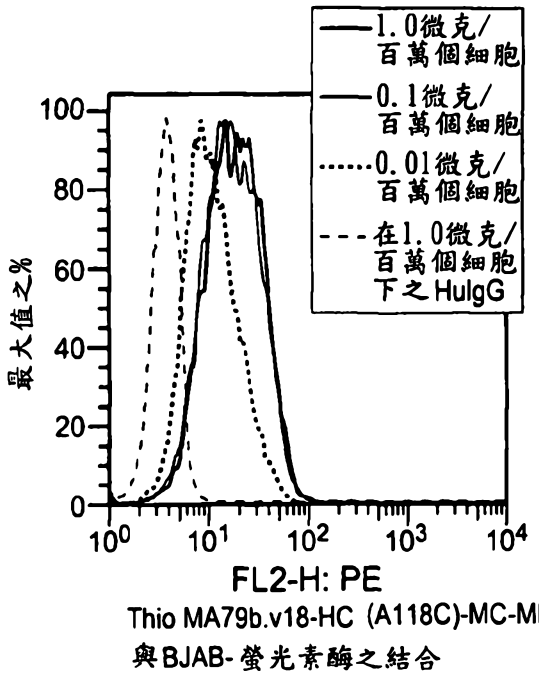

1.0微克/百萬個細胞
0.1微克/百萬個細胞
0.01微克/百萬個細胞
在1.0微克/百萬個細胞下之HulgG
最大值之%
FL2-H: PE
Thio chMA79b-HC(A118C)-MC-MMAF與BJAB-螢光素酶之結合

圖29B



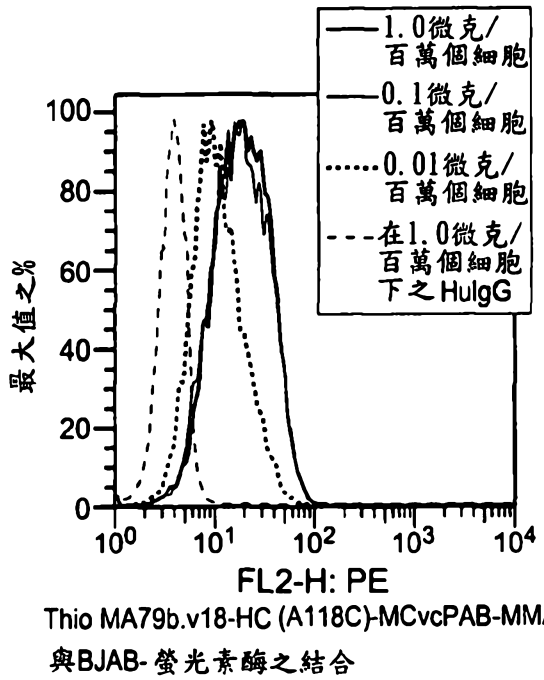
裸 Thio MA79b.v18-HC (A118C)與BJAB-螢光素酶之結合

圖30A



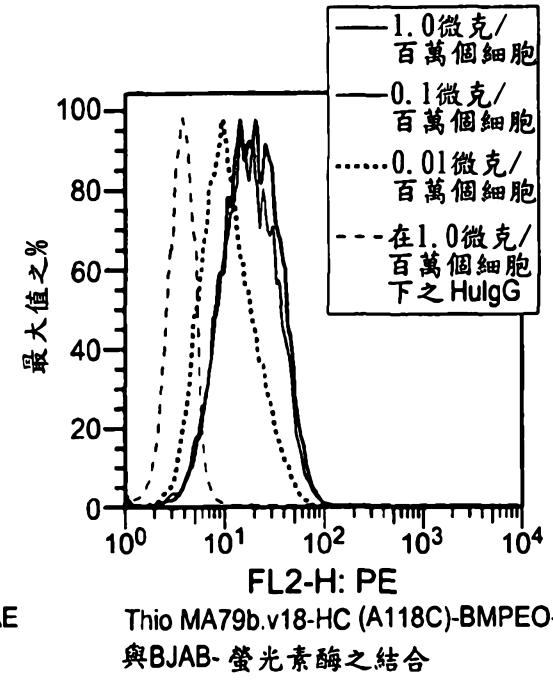
Thio MA79b.v18-HC (A118C)-MC-MMAF與BJAB-螢光素酶之結合

圖30B



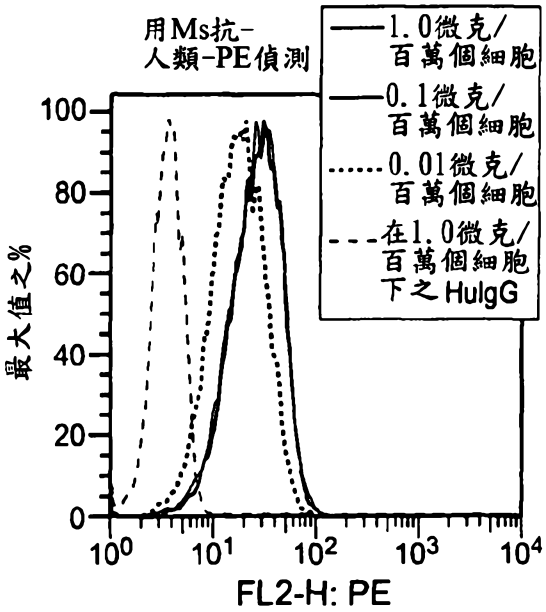
Thio MA79b.v18-HC (A118C)-MCvcPAB-MMAE與BJAB-螢光素酶之結合

圖30C



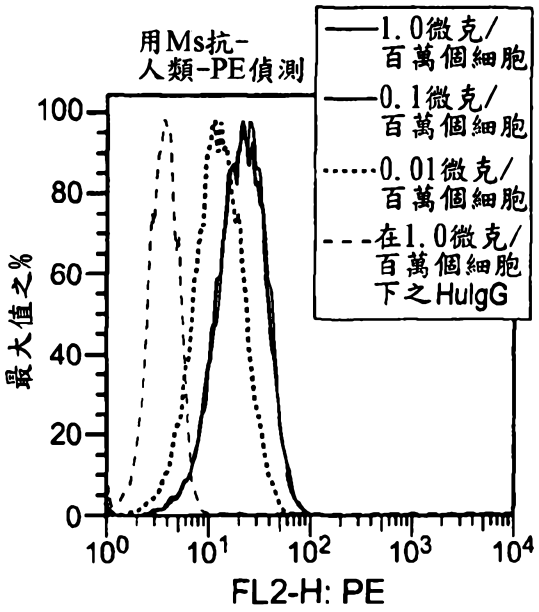
Thio MA79b.v18-HC (A118C)-BMPEO-DM1與BJAB-螢光素酶之結合

圖30D



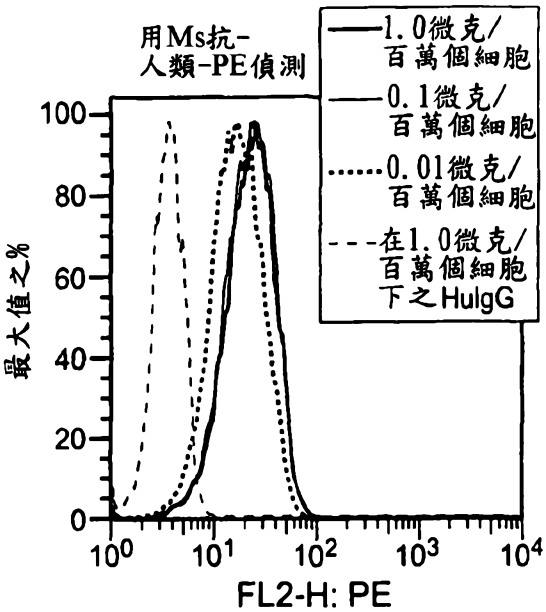
裸 Thio MA79b.v28-HC (A118C)
與BJAB-螢光素酶之結合

圖31A



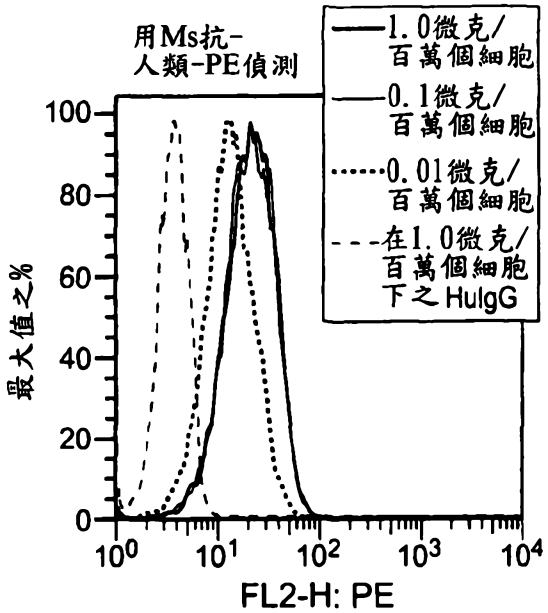
Thio MA79b.v28-HC (A118C)-MCvcPAB-MMAE
與BJAB-螢光素酶之結合

圖31B



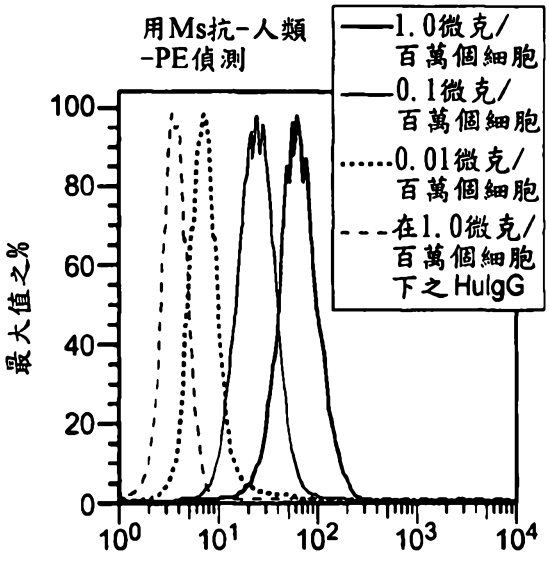
Thio MA79b.v28-HC (A118C)-BMPEO-DM1
與BJAB-螢光素酶之結合

圖31C



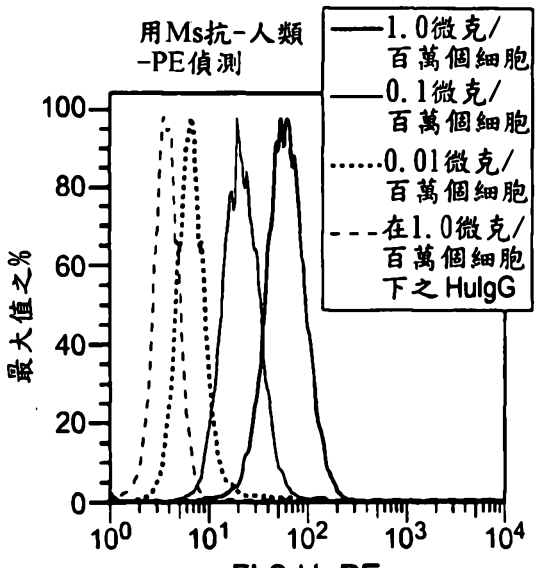
Thio MA79b.v28-HC (A118C)-MC-MMAF
與BJAB-螢光素酶之結合

圖31D



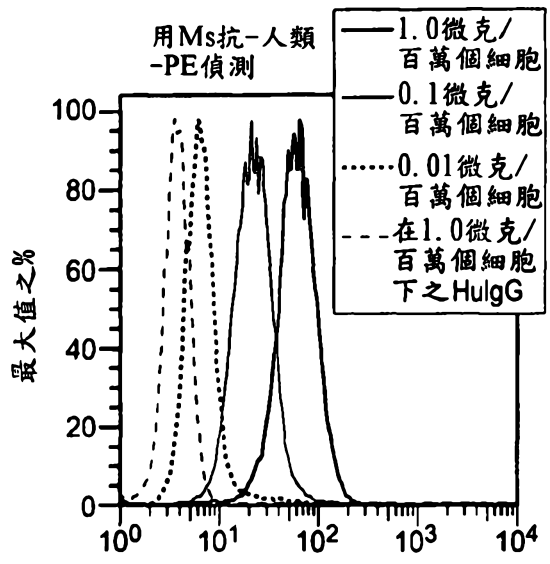
裸 Thio 抗-cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)
與BJAB- cynoCD79b 細胞之結合

圖32A



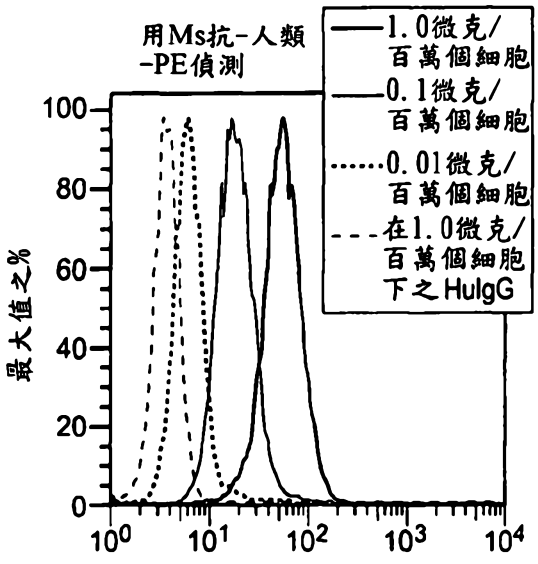
Thio 抗-cynoCD79b (ch10D10)-HC(A118C)-
MCvcPAB-MMAE 與 BJAB-cynoCD79b
細胞之結合

圖32B



Thio 抗 -cynoCD79b (ch10D10)-HC(A118C)
-BMPEO-DM1 與 BJAB-cynoCD79b
細胞之結合

圖32C



Thio 抗 -cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)
-MC-MMAF 與BJAB-cynoCD79b 細胞之結合

圖32D

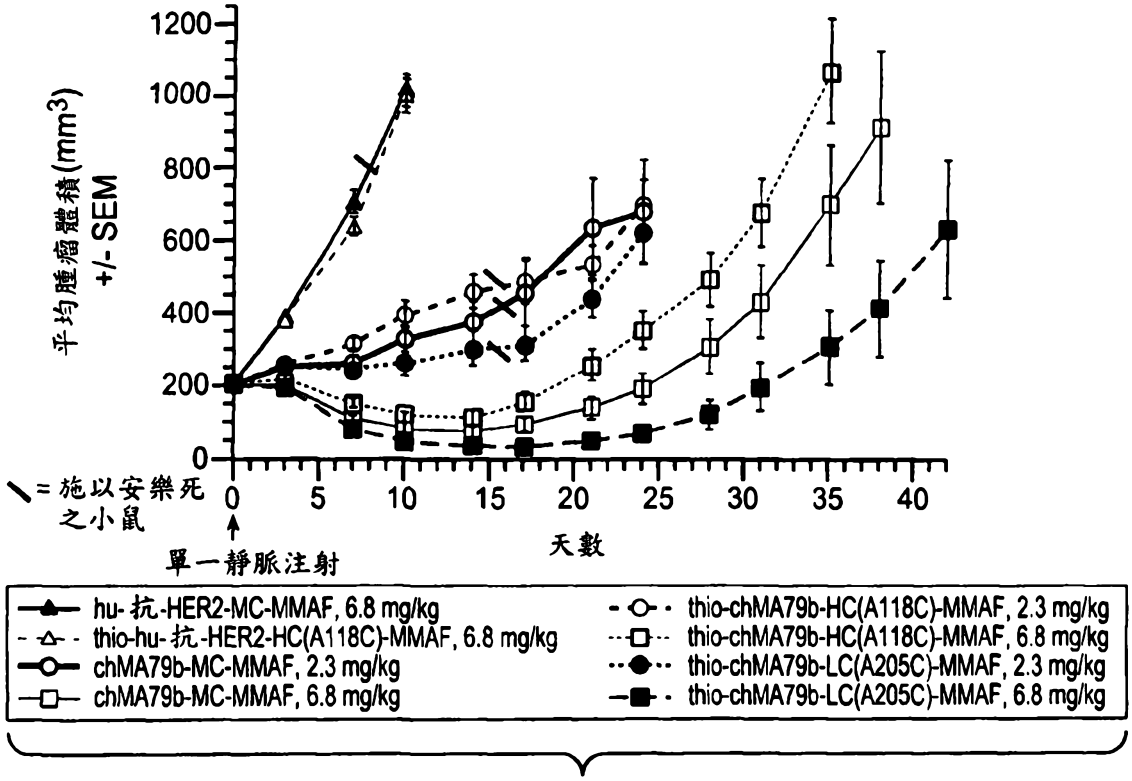

平均腫瘤體積(mm3)
+/- SEM
1200
1000
800
600
400
200
0
0
5
10
15
20
25
30
35
40
天數
/ = 施以安樂死之小鼠
單一靜脈注射
hu-抗-HER2-MC-MMAF, 6.8 mg/kg
thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MMAF, 6.8 mg/kg
chMA79b-MC-MMAF, 2.3 mg/kg
chMA79b-MC-MMAF, 6.8 mg/kg
thio-chMA79b-HC(A118C)-MMAF, 2.3 mg/kg
thio-chMA79b-HC(A118C)-MMAF, 6.8 mg/kg
thio-chMA79b-LC(A205C)-MMAF, 2.3 mg/kg
thio-chMA79b-LC(A205C)-MMAF, 6.8 mg/kg

圖33A

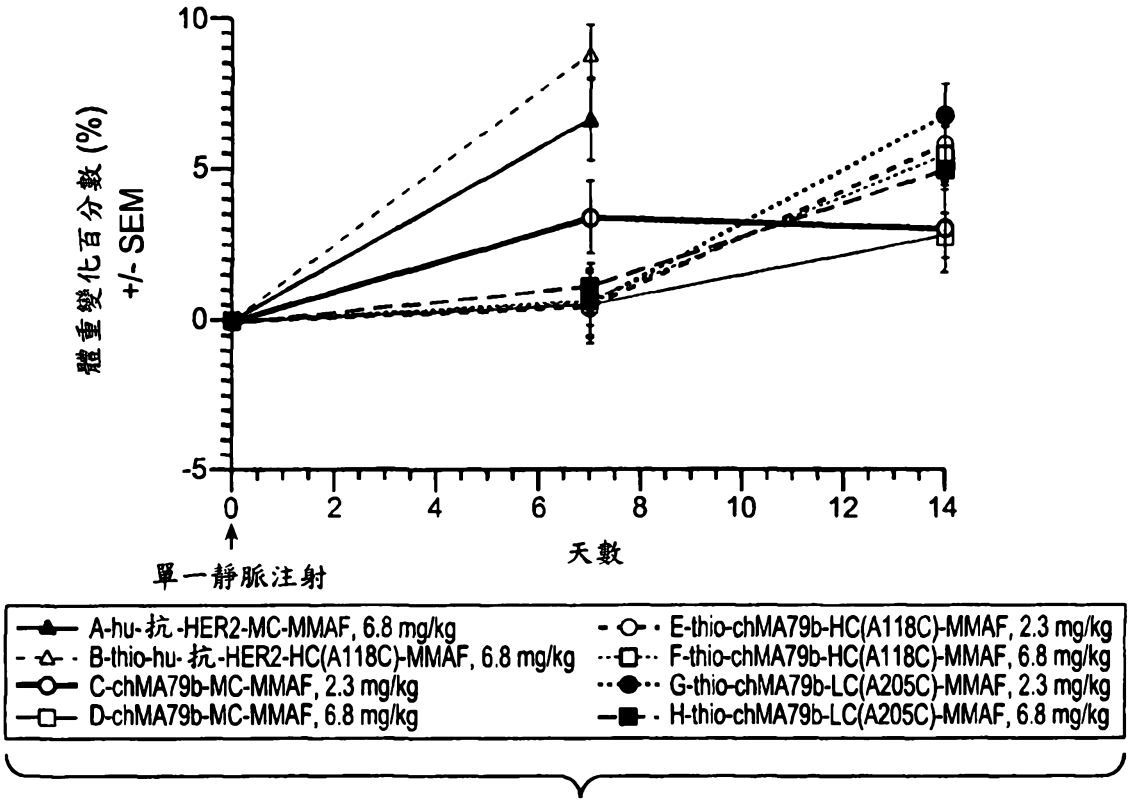

體重變化百分數 (%)
+/- SEM
10
5
0
-5
0
2
4
6
8
10
12
14
天數
單一靜脈注射
A-hu-抗-HER2-MC-MMAF, 6.8 mg/kg
B-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MMAF, 6.8 mg/kg
C-chMA79b-MC-MMAF, 2.3 mg/kg
D-chMA79b-MC-MMAF, 6.8 mg/kg
E-thio-chMA79b-HC(A118C)-MMAF, 2.3 mg/kg
F-thio-chMA79b-HC(A118C)-MMAF, 6.8 mg/kg
G-thio-chMA79b-LC(A205C)-MMAF, 2.3 mg/kg
H-thio-chMA79b-LC(A205C)-MMAF, 6.8 mg/kg

圖33B

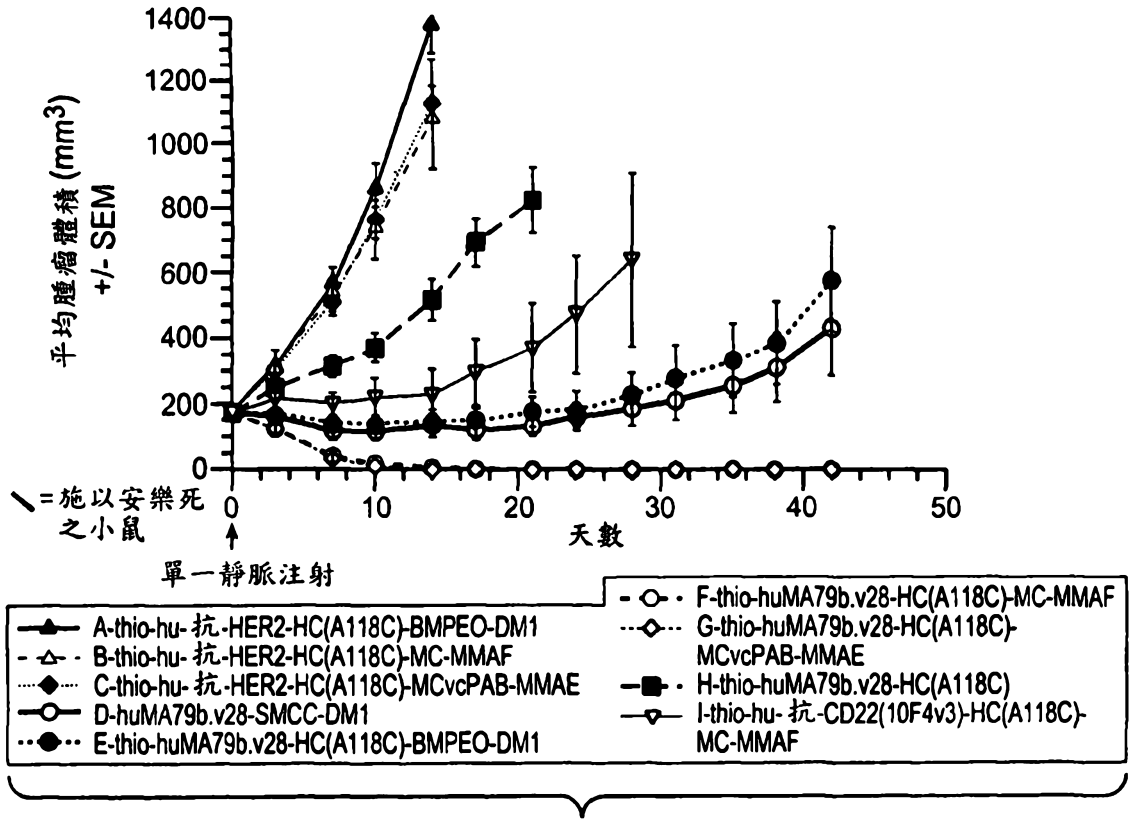

平均腫瘤體積 (mm3)
+/- SEM
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
0
10
20
30
40
50
天數
/ =施以安樂死之小鼠
單一靜脈注射
A-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1
B-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF
C-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE
D-huMA79b.v28-SMCC-DM1
E-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1
F-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF
G-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE
H-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)
I-thio-hu-抗-CD22(10F4v3)-HC(A118C)-MC-MMAF

圖34A

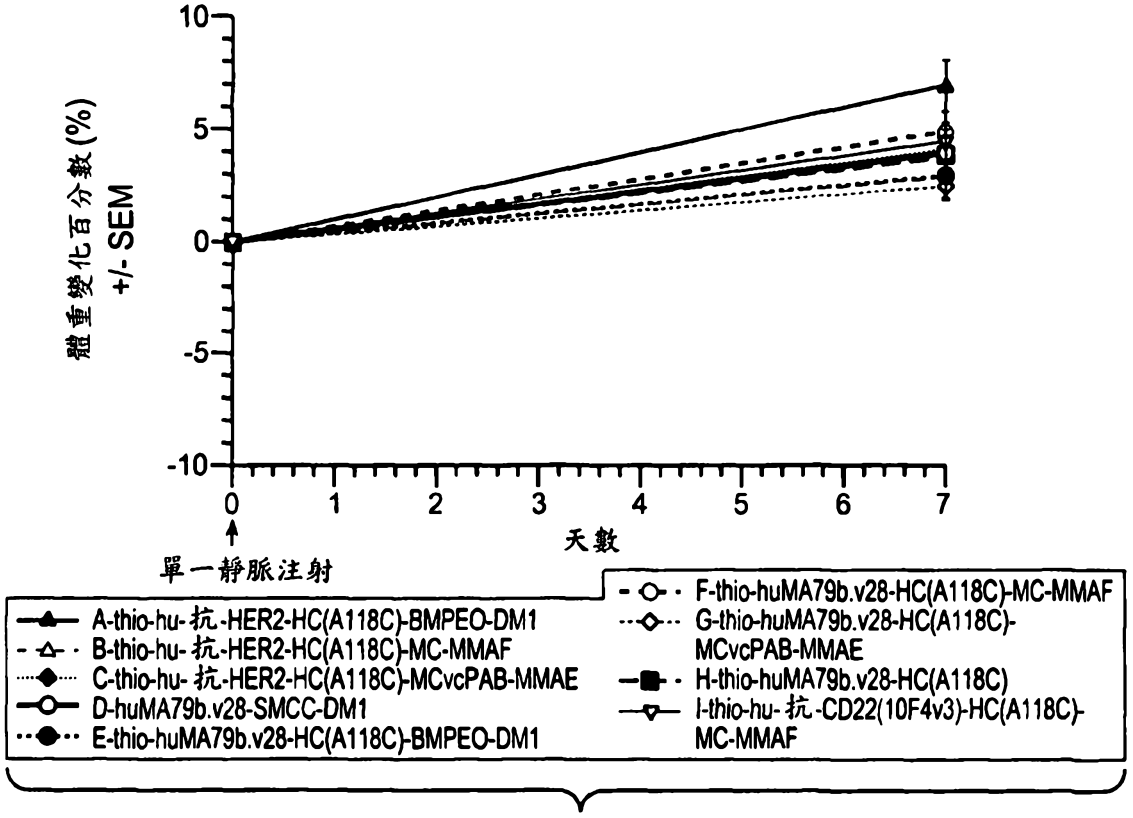

體重變化百分數 (%)
+/- SEM
10
5
0
-5
-10
0
1
2
3
4
5
6
7
天數
單一靜脈注射
A-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1
B-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF
C-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE
D-huMA79b.v28-SMCC-DM1
E-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1
F-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF
G-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE
H-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)
I-thio-hu-抗-CD22(10F4v3)-HC(A118C)-MC-MMAF

圖34B

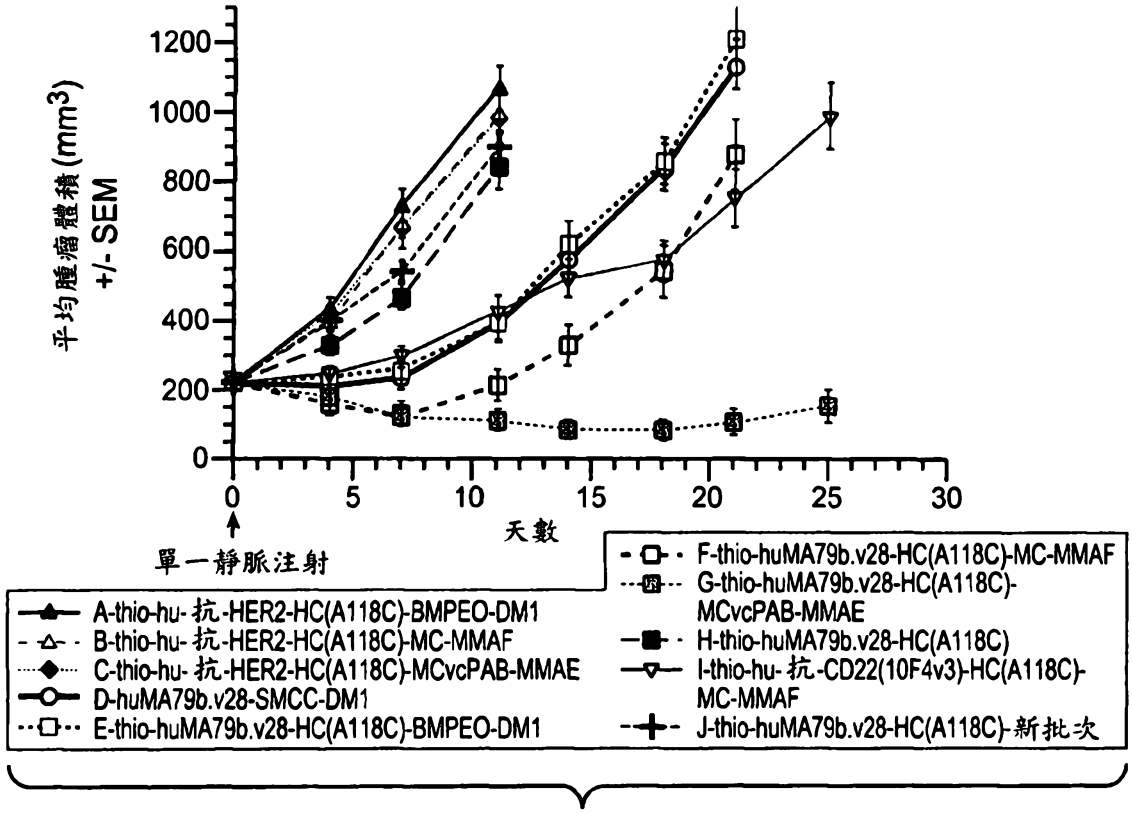

平均腫瘤體積 (mm3)
+/- SEM
1200
1000
800
600
400
200
0
0
5
10
15
20
25
30
天數
單一靜脈注射
A-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1
B-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF
C-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE
D-huMA79b.v28-SMCC-DM1
E-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1
F-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF
G-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE
H-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)
I-thio-hu-抗-CD22(10F4v3)-HC(A118C)-MC-MMAF
J-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-新批次

圖35A

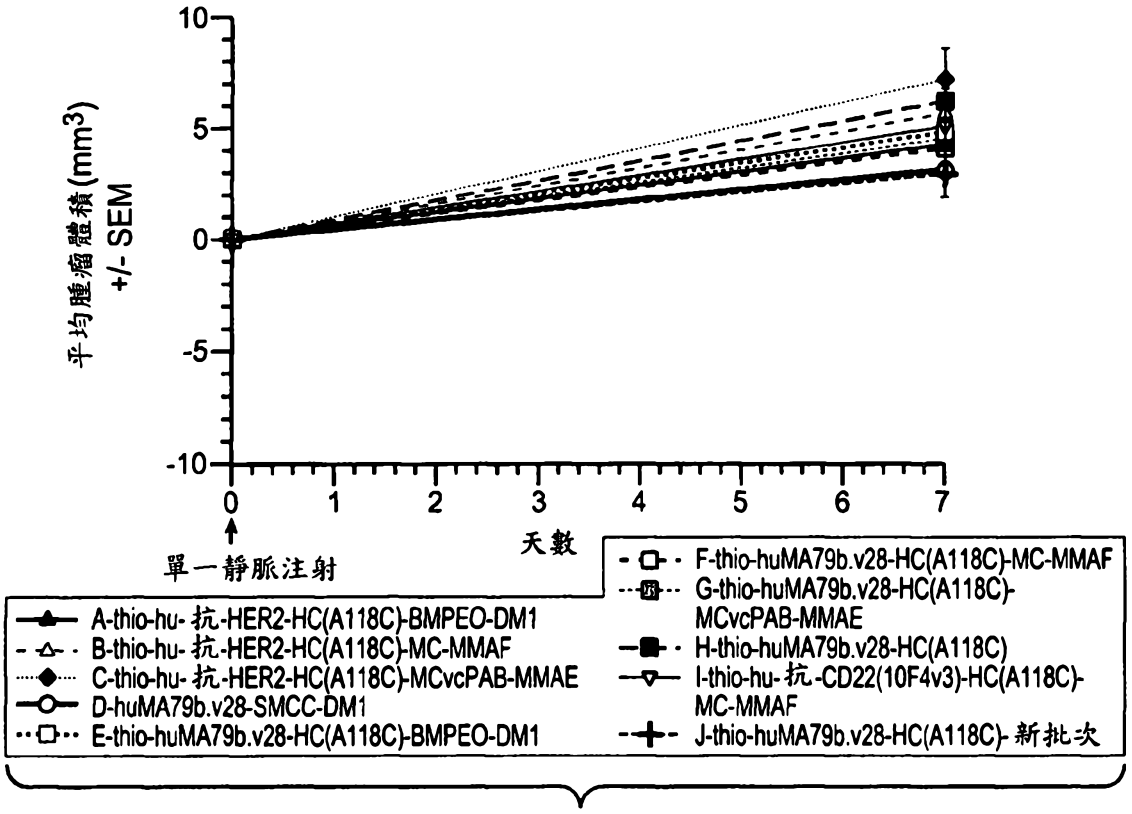

平均腫瘤體積 (mm3)
+/- SEM
10
5
0
-5
-10
0
1
2
3
4
5
6
7
天數
單一靜脈注射
A-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1
B-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF
C-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE
D-huMA79b.v28-SMCC-DM1
E-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1
F-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF
G-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE
H-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)
I-thio-hu-抗-CD22(10F4v3)-HC(A118C)-MC-MMAF
J-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-新批次

圖35B

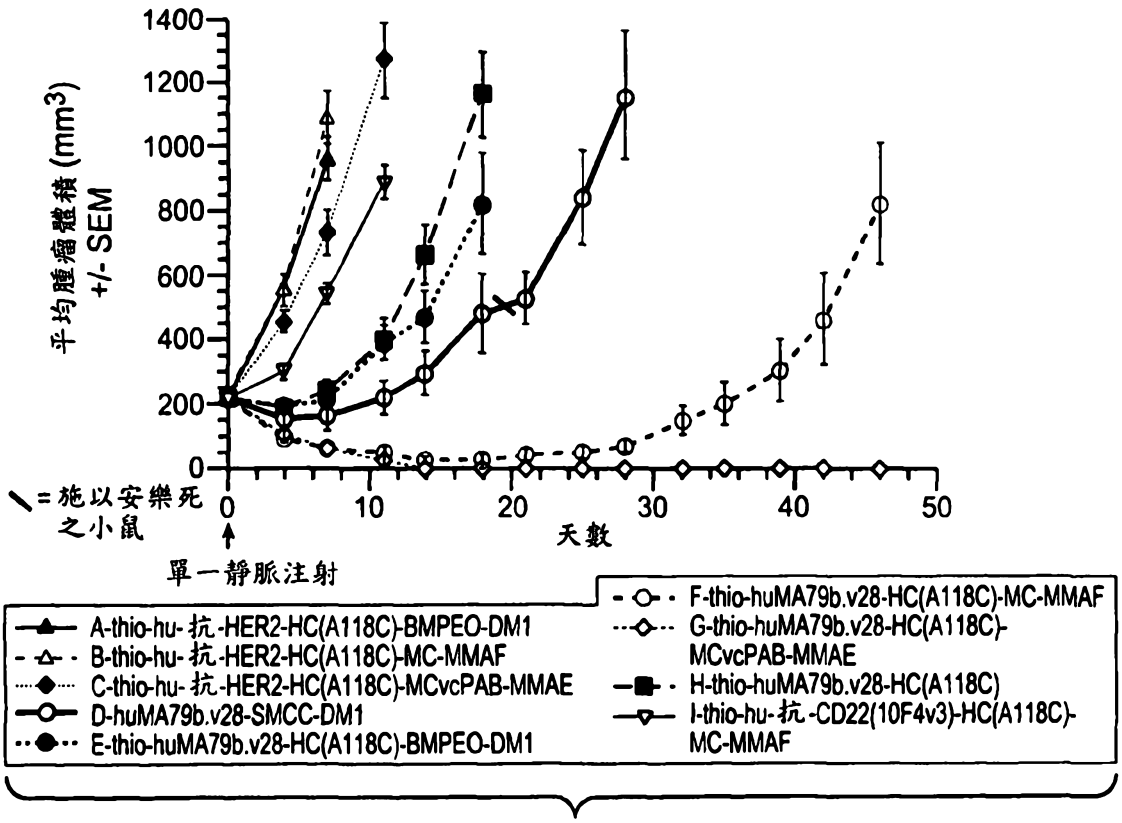

平均腫瘤體積 (mm3)
+/- SEM
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
0
10
20
30
40
50
天數
/ = 施以安樂死之小鼠
單一靜脈注射
A-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1
B-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF
C-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE
D-huMA79b.v28-SMCC-DM1
E-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1
F-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF
G-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE
H-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)
I-thio-hu-抗-CD22(10F4v3)-HC(A118C)-MC-MMAF

圖36

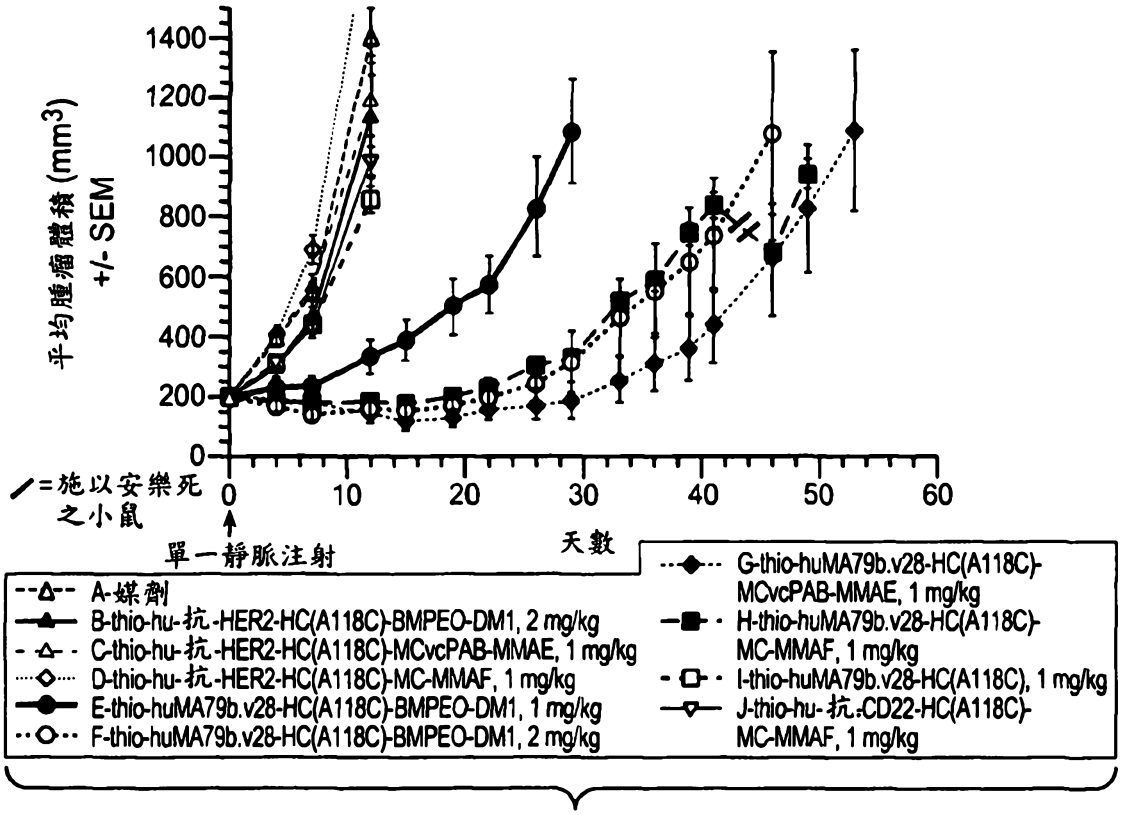

平均腫瘤體積 (mm3)
+/- SEM
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
0
10
20
30
40
50
60
天數
/ = 施以安樂死之小鼠
單一靜脈注射
A-媒劑
B-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 2 mg/kg
C-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE, 1 mg/kg
D-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF, 1 mg/kg
E-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 1 mg/kg
F-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 2 mg/kg
G-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE, 1 mg/kg
H-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF, 1 mg/kg
I-thio-huMA79b.v28-HC(A118C), 1 mg/kg
J-thio-hu-抗-CD22-HC(A118C)-MC-MMAF, 1 mg/kg

圖37

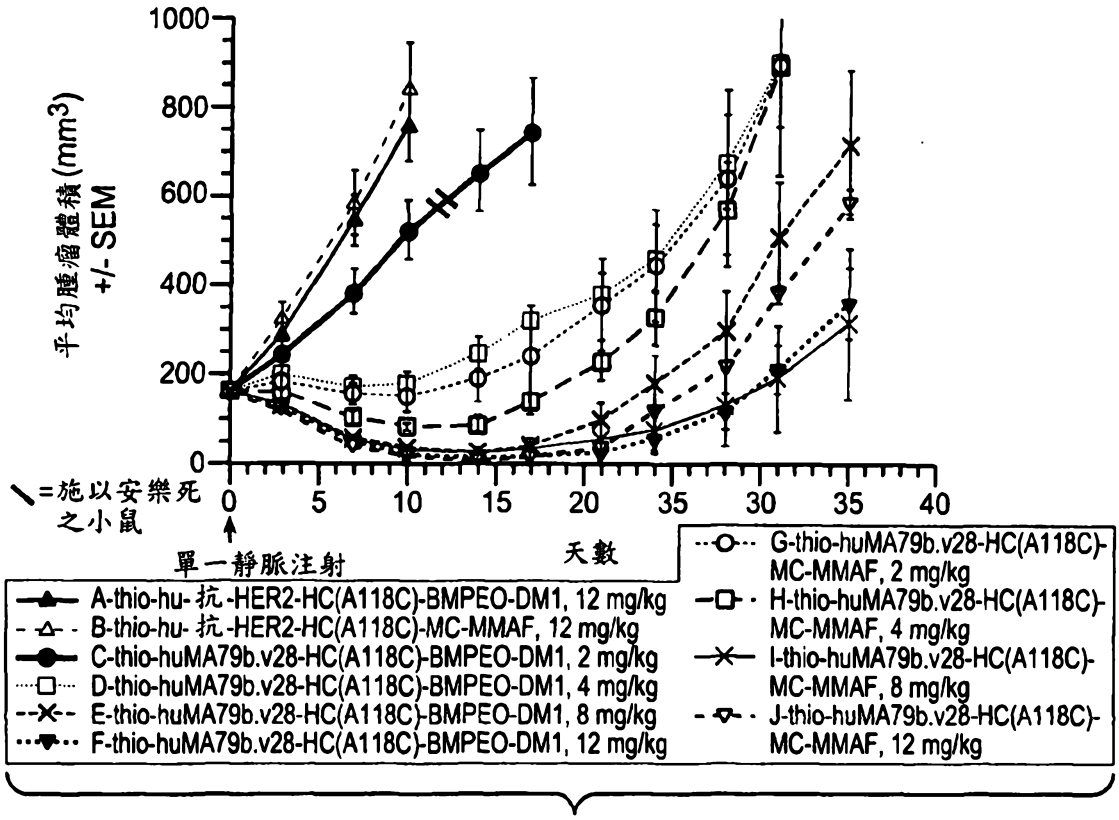

平均腫瘤體積 (mm3)
+/- SEM
1000
800
600
400
200
0
0
5
10
15
20
35
30
35
40
天數
單一靜脈注射
=施以安樂死之小鼠
A-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 12 mg/kg
B-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF, 12 mg/kg
C-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 2 mg/kg
D-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 4 mg/kg
E-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 8 mg/kg
F-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 12 mg/kg
G-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF, 2 mg/kg
H-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF, 4 mg/kg
I-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF, 8 mg/kg
J-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF, 12 mg/kg

圖38A

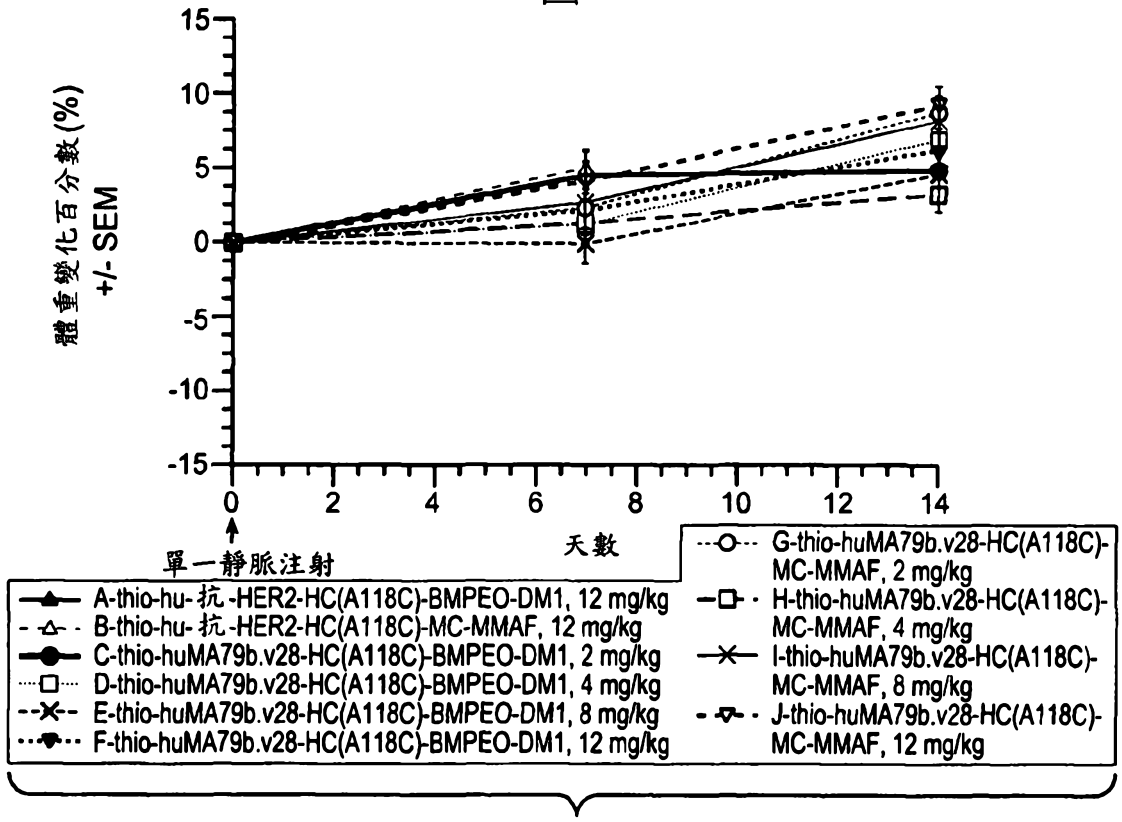

體重變化百分數(%)
+/- SEM
15
10
5
0
-5
-10
-15
0
2
4
6
8
10
12
14
天數
單一靜脈注射
A-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 12 mg/kg
B-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF, 12 mg/kg
C-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 2 mg/kg
D-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 4 mg/kg
E-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 8 mg/kg
F-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 12 mg/kg
G-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF, 2 mg/kg
H-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF, 4 mg/kg
I-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF, 8 mg/kg
J-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF, 12 mg/kg

圖38B

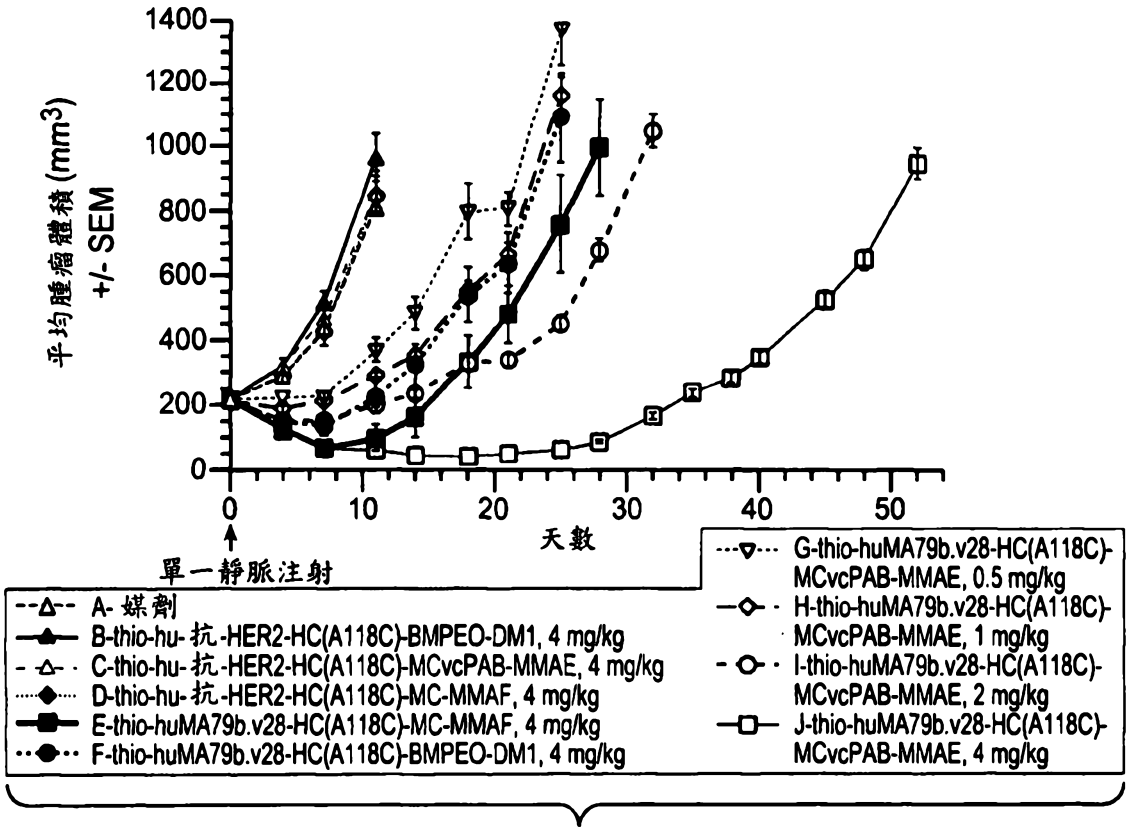

平均腫瘤體積 (mm3)
+/- SEM
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
0
10
20
30
40
50
天數
單一靜脈注射
A- 媒劑
B-thio-hu- 抗 -HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 4 mg/kg
C-thio-hu- 抗 -HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE, 4 mg/kg
D-thio-hu- 抗 -HER2-HC(A118C)-MC-MMAF, 4 mg/kg
E-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF, 4 mg/kg
F-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 4 mg/kg
G-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE, 0.5 mg/kg
H-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE, 1 mg/kg
I-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE, 2 mg/kg
J-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE, 4 mg/kg

圖39

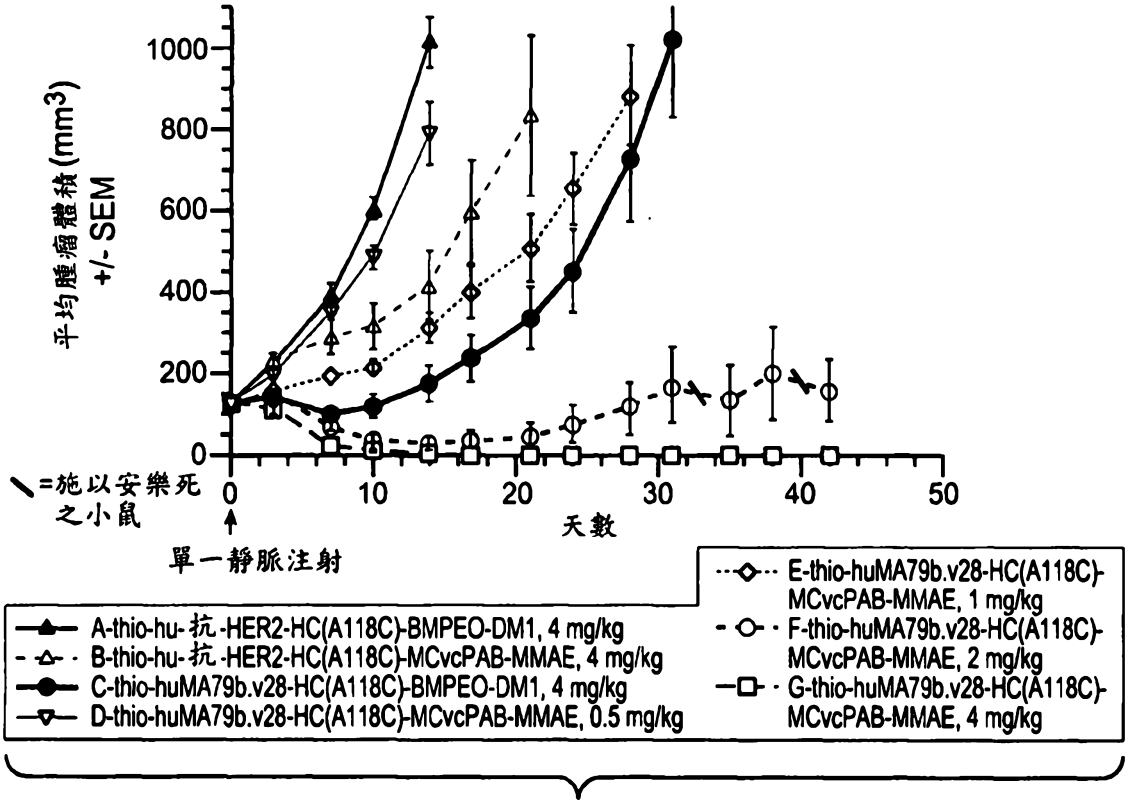

平均腫瘤體積 (mm3)
+/- SEM
1000
800
600
400
200
0
0
10
20
30
40
50
天數
/ =施以安樂死之小鼠
單一靜脈注射
A-thio-hu- 抗 -HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 4 mg/kg
B-thio-hu- 抗 -HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE, 4 mg/kg
C-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 4 mg/kg
D-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE, 0.5 mg/kg
E-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE, 1 mg/kg
F-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE, 2 mg/kg
G-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE, 4 mg/kg

圖40

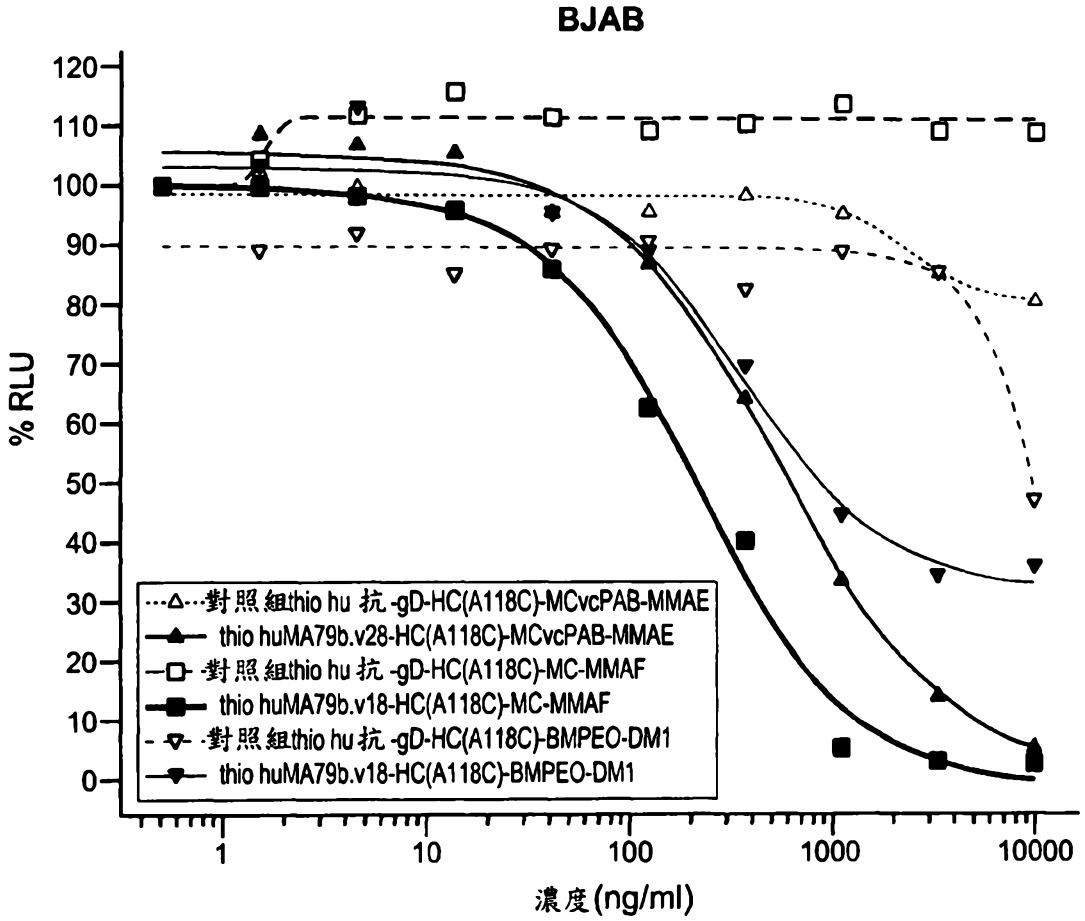

BJAB
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
% RLU
1
10
100
1000
10000
濃度(ng/ml)
對照組thio hu 抗 -gD-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE
thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE
對照組thio hu 抗 -gD-HC(A118C)-MC-MMAF
thio huMA79b.v18-HC(A118C)-MC-MMAF
對照組thio hu 抗 -gD-HC(A118C)-BMPEO-DM1
thio huMA79b.v18-HC(A118C)-BMPEO-DM1

圖41A

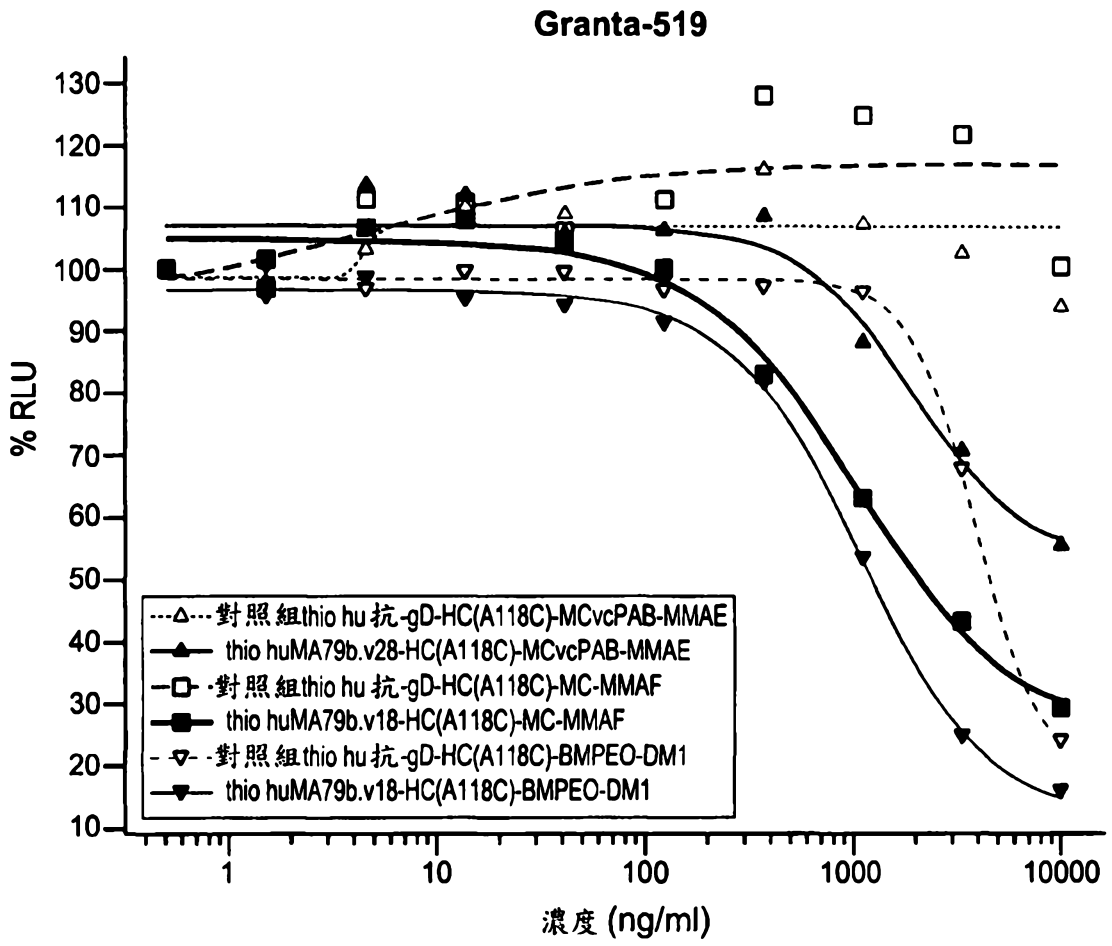

Granta-519
% RLU
濃度 (ng/ml)
對照組thio hu抗-gD-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE
thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE
對照組thio hu抗-gD-HC(A118C)-MC-MMAF
thio huMA79b.v18-HC(A118C)-MC-MMAF
對照組thio hu抗-gD-HC(A118C)-BMPEO-DM1
thio huMA79b.v18-HC(A118C)-BMPEO-DM1

圖41B

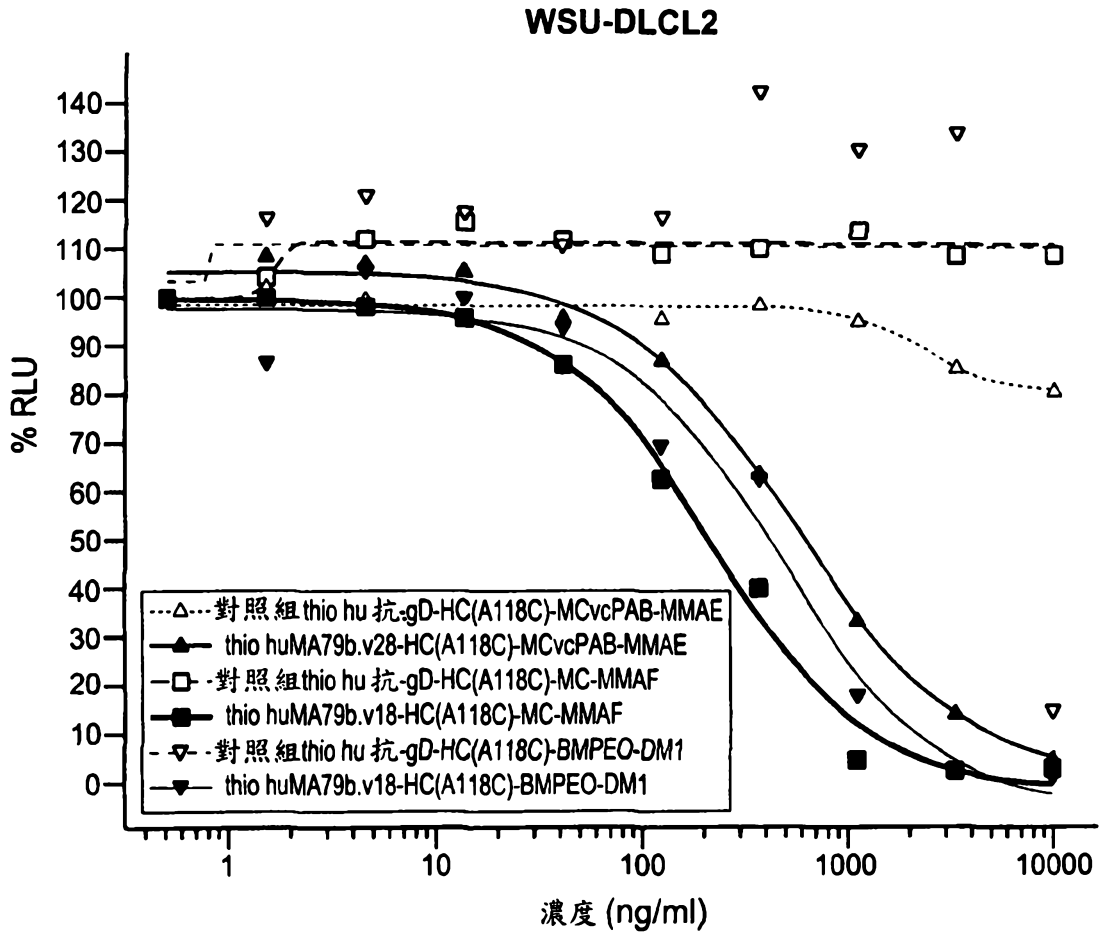

WSU-DLCL2
% RLU
140
130
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
1
10
100
1000
10000
濃度 (ng/ml)
對照組thio hu 抗-gD-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE
thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE
對照組thio hu 抗-gD-HC(A118C)-MC-MMAF
thio huMA79b.v18-HC(A118C)-MC-MMAF
對照組thio hu 抗-gD-HC(A118C)-BMPEO-DM1
thio huMA79b.v18-HC(A118C)-BMPEO-DM1

圖41C

<p1.cynoCD79b

TCATGGTGATGGTGATGATGACCGGTACGCGTAGAATCGAGACCGAGGAGAGGGTTAGGGATAGG
CTTACCTTCGAACCGCGGGCCCTCTAGACTCGAGCGGCCGCCACTGTGCTGGATATCTGCAGAAT
TGCCCTTGGGGACAGAGCAGTGACCATGGCCAGGCTGGCGTTGTCTCCTGTGTCCAGCCACTGGC
TGGTGGCGTTGCTGCTGCTGCTCTCAGCAGCTGAGCCAGTGCCAGCAGCCAAATCAGAGGACCTG
TACCCGAATCCCAAAGGTAGTGCTTGTTCTCGGATCTGGCAGAGCCCACGTTTCATAGCCAGGAA
ACGGGGCTTCACGGTGAAAATGCACTGCTACGTGACCAACAGCACCTTCAGCATCGTGAGCTGGC
TCCGGAAGCGGGAGACGGACAAGGAGCCCCAACAGGTGAACCTGGAGCAGGGCCACATGCATCAG
ACCCAAAACAGCTCTGTCACCACCCTCATCATCCAAGACATCCGGTTTGAGGACAACGGCATCTA
CTTCTGTCAGCAGGAGTGCAGCAAGACCTCGGAGGTCTACCGGGGCTGCGGCACGGAGCTGCGAG
TCATGGGGTTCAGCACCTTGGCACAGCTGAAGCAGAGGAACACGCTGAAGGATGGCATCATCATG
ATCCAGACGCTGCTGATCATCCTCTTCATCATCGTGCCCATCTTCCTGCTGCTGGACAAGGATGA
CAGCAAGGCCGGCATGGAGGAAGATCACACCTACGAGGGCCTGGACATTGACCAGACGGCCACCT
ACGAGGACATAGTGACGCTGCGGACAGGGGAAGTGAAGTGGTCTGTGGGTGAGCACCCAGGTCAG
GAGTGAGAGCCAGGACCTCCCCACGGCCTGGGTGCAGGCTCCCCAGCC

圖42

<p1.cynoCD79b
DNA548455

MARLALSPVSSHWLVALLLLLSAAEPVPAAKSEDLYPNPKGSACSRIWQSPRFIARKRGFT
VKMHCYVTNSTFSIVSWLRKRETDKEPQQVNLEQGHMHQTQNSSVTTLIIQDIRFEDNGIY
FCQQECSKTSEVYRGCGTELRVMGFSTLAQLKQRNTLKDGIIMIQTLLIILFIIVPIFLLL
DKDDSKAGMEEDHTYEGLDIDQTATYEDIVTLRTGEVKWSVGEHPGQE

信號序列。
胺基酸 1-26.

跨膜域。
胺基酸 161-181.

免疫球蛋白域。
胺基酸 59-126.

基於免疫受體酪胺酸之活化基元。
胺基酸 195-215.

免疫球蛋白V組域。
胺基酸 44-145.

N-糖基化位點。
胺基酸 70-73, 103-106.

cAMP及cGMP依賴性蛋白激酶磷酸化位點。
胺基酸 81-84.

蛋白激酶C磷酸化位點。
胺基酸 50-52, 61-63, 84-86, 158-160, 214-216.

酪蛋白激酶II磷酸化位點。
胺基酸 22-25, 84-87, 158-161, 208-211, 223-226.

酪胺酸激酶磷酸化位點。
胺基酸 115-122.

N-肉豆蔻醯基化位點。
胺基酸 41-46, 120-125.

圖43

嵌合抗-CYNO CD79b (ch10D10)輕鏈

ACCTCGGTTC TATCGATTGA ATTCCACCAT GGGATGGTCA TGTATCATCC TTTTTCTAGT
AGCAACTGCA ACTGGAGTAC ATTCAGATAT CGTGCTGACC CAATCTCCAC CCTCTTTGGC
TGTGTCTCTA GGGCAGAGGG CCACCATATC CTGCAGAGCC AGTGAAAGTG TTGATAGTTA
TGGCAAAACT TTTATGCACT GGCACCAGCA GAAACCAGGA CAGCCACCCA AACTCCTCAT
CTATCGTGTA TCCAACCTAG AATCTGGGAT CCCTGCCAGG TTCAGTGGCA GTGGGTCAAG
GACAGACTTC ACCCTCACCA TTAATCCTGT GGAGGCTGAT GATGTTGCAA CCTATTACTG
TCAGCAAAGT AATGAGGATC CGTTCACGTT CGGTGGAGGC ACCAAGCTGG AAATCAAACG
GACCGTGGCT GCACCATCTG TCTTCATCTT CCCGCCATCT GATGAGCAGT TGAAATCTGG
AACTGCCTCT GTTGTGTGCC TGCTGAATAA CTTCTATCCC AGAGAGGCCA AAGTACAGTG
GAAGGTGGAT AACGCCCTCC AATCGGGTAA CTCCCAGGAG AGTGTCACAG AGCAGGACAG
CAAGGACAGC ACCTACAGCC TCAGCAGCAC CCTGACGCTG AGCAAAGCAG ACTACGAGAA
ACACAAAGTC TACGCCTGCG AAGTCACCCA TCAGGGCCTG AGCTCGCCCG TCACAAAGAG
CTTCAACAGG GGAGAGTGTT AAGCTTGGCC GCCATGGCCC AACTTGTTTA TTGCAGCTTA
TAATGGTTAC AAATAAAGCA

圖44

嵌合抗-CYNO CD79b (ch10D10)輕鏈

DIVLTQSPPSLAVSLGQRATISCRASESVDSYGKTFMHWHQQKPGQPPKLLIYRVSNLESGIPAR
FSGSGSRTDFTLTINPVEADDVATYYCQQSNEDPFTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK
SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV
YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

圖45

嵌合抗-CYNO CD79b (ch10D10) 重鏈

CACCTCGGTT CTATCGATTG AATTCCACCA TGGGATGGTC ATGTATCATC CTTTTTCTAG
TAGCAACTGC AACTGGAGTA CATTCAGAAG TTCAGCTGCA GGAGTCGGGA CCTGGCCTGG
TGAAACCTTC TCAGTCTCTG TCCCTCACCT GCACTGTCAC TGGCTACTCA ATCACCAGTG
ATTATGCCTG GAACTGGATC CGGCAGTTTC CAGGAAACAA ACTGGAGTGG ATGGGCAACA
TATGGTACAG TGGTAGCACT ACCTACAACC CATCTCTCAA AAGTCGAATC TCTATCACTC
GAGACACATC CAAGAACCAG TTCTTCCTGC AGTTGAATTC TGTGACTTCT GAGGACACAG
CCACATATTA CTGTTCAAGA ATGGACTTCT GGGGTCAAGG CACCACTCTC ACAGTCTCCT
CAGCCTCCAC CAAGGGCCCA TCGGTCTTCC CCCTGGCACC CTCCTCCAAG AGCACCTCTG
GGGGCACAGC GGCCCTGGGC TGCCTGGTCA AGGACTACTT CCCCGAACCG GTGACGGTGT
CGTGGAACTC AGGCGCCCTG ACCAGCGGCG TGCACACCTT CCCGGCTGTC CTACAGTCCT
CAGGACTCTA CTCCCTCAGC AGCGTGGTGA CTGTGCCCTC TAGCAGCTTG GGCACCCAGA
CCTACATCTG CAACGTGAAT CACAAGCCCA GCAACACCAA GGTGGACAAG AAAGTTGAGC
CCAAATCTTG TGACAAAACT CACACATGCC CACCGTGCCC AGCACCTGAA CTCCTGGGGG
GACCGTCAGT CTTCCTCTTC CCCCCAAAAC CCAAGGACAC CCTCATGATC TCCCGGACCC
CTGAGGTCAC ATGCGTGGTG GTGGACGTGA GCCACGAAGA CCCTGAGGTC AAGTTCAACT
GGTACGTGGA CGGCGTGGAG GTGCATAATG CCAAGACAAA GCCGCGGGAG GAGCAGTACA
ACAGCACGTA CCGTGTGGTC AGCGTCCTCA CCGTCCTGCA CCAGGACTGG CTGAATGGCA
AGGAGTACAA GTGCAAGGTC TCCAACAAAG CCCTCCCAGC CCCCATCGAG AAAACCATCT
CCAAAGCCAA AGGGCAGCCC CGAGAACCAC AGGTGTACAC CCTGCCCCCA TCCCGGGAAG
AGATGACCAA GAACCAGGTC AGCCTGACCT GCCTGGTCAA AGGCTTCTAT CCCAGCGACA
TCGCCGTGGA GTGGGAGAGC AATGGGCAGC CGGAGAACAA CTACAAGACC ACGCCTCCCG
TGCTGGACTC CGACGGCTCC TTCTTCCTCT ACAGCAAGCT CACCGTGGAC AAGAGCAGGT
GGCAGCAGGG GAACGTCTTC TCATGCTCCG TGATGCATGA GGCTCTGCAC AACCACTACA
CGCAGAAGAG CCTCTCCCTG TCTCCGGGTA AATGAGTGCG ACGGCCCTAG AGTCGACCTG
CAGAAGCTTG GCCGCCATGG CCCAACTTGT TTATTGCAGC TTATAATGGT TACAAATAAA

圖46

嵌合抗-CYNO CD79b (ch10D10) 重鏈

EVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWIRQFPGNKLEWMGNIWYSGSTTYNPSLK
SRISITRDTSKNQFFLQLNSVTSEDTATYYCSRMDFWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC
NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD
VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP
PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

圖47

抗-cyno CD79b ch10D10 A118C 半胱胺酸工程化重鏈 ThioMAb

A. 輕鏈序列

Thio- 抗-cyno CD79b (ch10D10)-HC-A118C (LC)

DIVLTQSPPSLAVSLGQRATISCRASESVDSYGKTFMHWHQQKPGQPPKLLIYRVSNLESGIPAR
FSGSGSRTDFTLTINPVEADDVATYYCQQSNEDPFTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK
SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV
YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 245)

B. 重鏈序列

Thio- 抗-cyno CD79b (ch10D10)-HC-A118C (HC)

DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWIRQFPGNKLEWMGNIWYSGSTTYNPSLK
SRISITRDTSKNQFFLQLNSVTSEDTATYYCSRMDFWGQGTTLTVSSCSTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC
NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD
VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP
PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
(SEQ ID NO: 244)

圖48

抗-cyno CD79b ch10D10 V205C 半胱胺酸工程化輕鏈 ThioMAb

A. 輕鏈序列

Thio- 抗-cyno CD79b (ch10D10)-HC-V205C (LC)

DIVLTQSPPSLAVSLGQRATISCRASESVDSYGKTFMHWHQQKPGQPPKLLIYRVSNLESGIPAR
FSGSGSRTDFTLTINPVEADDVATYYCQQSNEDPFTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK
SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV
YACEVTHQGLSSPCTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 300)

B. 重鏈序列

Thio- 抗-cyno CD79b (ch10D10)-HC-V205C (HC)

DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWIRQFPGNKLEWMGNIWYSGSTTYNPSLK
SRISITRDTSKNQFFLQLNSVTSEDTATYYCSRMDFWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC
NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD
VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP
PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 299)

圖49

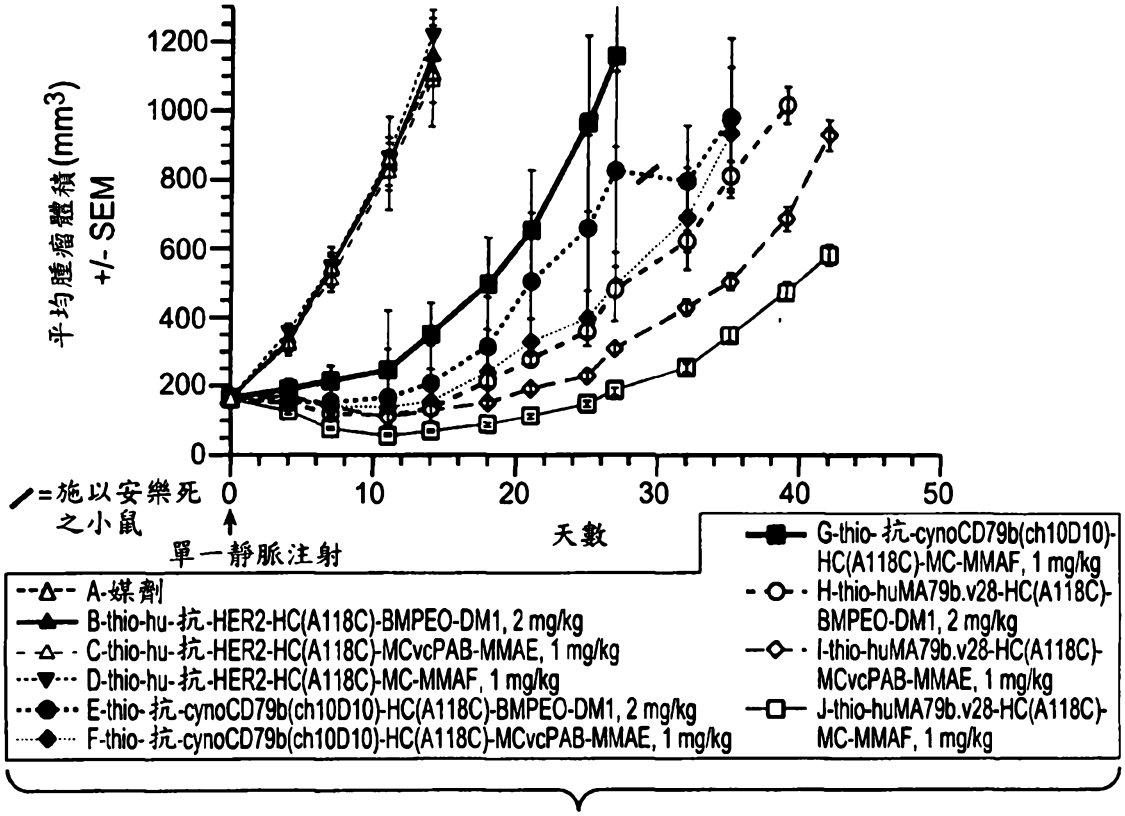

平均腫瘤體積 (mm3)
+/- SEM
1200
1000
800
600
400
200
0
0
10
20
30
40
50
天數
=施以安樂死之小鼠
單一靜脈注射
A-媒劑
B-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 2 mg/kg
C-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE, 1 mg/kg
D-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF, 1 mg/kg
E-thio-抗-cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 2 mg/kg
F-thio-抗-cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE, 1 mg/kg
G-thio-抗-cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)-MC-MMAF, 1 mg/kg
H-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 2 mg/kg
I-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE, 1 mg/kg
J-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF, 1 mg/kg

圖50

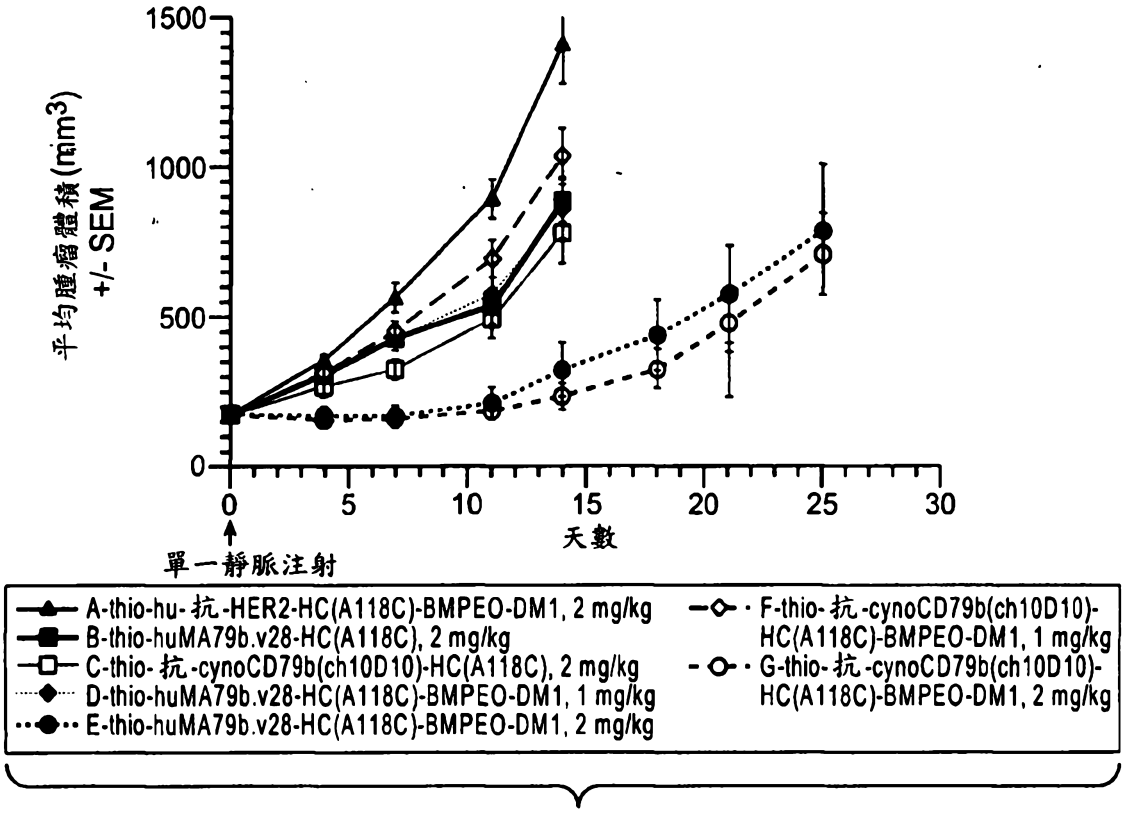

平均腫瘤體積 (mm3)
+/- SEM
1500
1000
500
0
0
5
10
15
20
25
30
天數
單一靜脈注射
A-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 2 mg/kg
B-thio-huMA79b.v28-HC(A118C), 2 mg/kg
C-thio-抗-cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C), 2 mg/kg
D-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 1 mg/kg
E-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 2 mg/kg
F-thio-抗-cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 1 mg/kg
G-thio-抗-cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 2 mg/kg

圖51

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（ 1 ）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

(無元件符號說明)

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

(無)

申請專利範圍

1. 一種半胱胺酸工程化抗-CD79b抗體，包含一或多個游離半胱胺酸胺基酸，其中該抗體包含：包含SEQ ID NO: 207之胺基酸序列的輕鏈可變域及包含SEQ ID NO: 208之胺基酸序列的重鏈可變域，且其中該一或多個游離半胱胺酸胺基酸殘基係根據EU編號規則位於該重鏈之118位置及/或根據Kabat編號規則位於該輕鏈之205位置。
2. 如請求項1之半胱胺酸工程化抗體，其中該一或多個游離半胱胺酸胺基酸殘基包含根據Kabat編號規則位於該輕鏈之205位置之游離半胱胺酸胺基酸。
3. 如請求項1之半胱胺酸工程化抗體，其中該一或多個游離半胱胺酸胺基酸殘基包含根據EU編號規則位於該重鏈之118位置之游離半胱胺酸胺基酸。
4. 如請求項1之半胱胺酸工程化抗體，其中該抗體包含：包含SEQ ID NO: 233之序列的輕鏈及包含SEQ ID NO: 232之序列的重鏈。
5. 如請求項1至4中任一項之半胱胺酸工程化抗體，其中該抗體為雙特異性抗體。
6. 如請求項1至4中任一項之半胱胺酸工程化抗體，其中該抗體為抗體片段。
7. 如請求項6之半胱胺酸工程化抗體，其中抗體片段為Fab片段。
8. 如請求項1至4中任一項之半胱胺酸工程化抗體，其包含白蛋白結合肽。
9. 如請求項8之半胱胺酸工程化抗體，其中該白蛋白結合肽係選自SEQ ID NOs: 246-250。
10. 一種聚核苷酸，其編碼如請求項1至9中任一項之抗體。

11. 一種載體，其包含如請求項10之聚核苷酸。

12. 一種宿主細胞，其包含如請求項11之載體。

13. 如請求項12之宿主細胞，其中該宿主細胞為原核宿主細胞。

14. 一種免疫共軛物，其包含如請求項1至9中任一項之半胱胺酸工程化抗體，其透過一或多個游離半胱胺酸胺基酸共價連接至細胞毒性劑。

15. 如請求項14之免疫共軛物，其中該細胞毒性劑係選自毒素、化學治療劑、藥物部分、抗生素、放射性同位素及溶核酶(nucleolytic enzyme)。

16. 一種免疫共軛物，其包含如請求項1至9中任一項之抗體，其共價連接至捕捉標記、偵測標記或固體支撐物。

17. 如請求項16之免疫共軛物，其中該抗體係共價連接至捕捉標記且該補捉標記包含生物素捕捉標記。

18. 如請求項16之免疫共軛物，其中該抗體係共價連接至偵測標記且該偵測標記包含螢光染料偵測標記。

19. 如請求項18之免疫共軛物，其中該螢光染料係選自螢光素類型(fluorescein type)、若丹明(rhodamine)類型、丹醯(dansyl)、麗絲胺(Lissamine)、花青、藻紅蛋白、得克薩斯紅(Texas Red)及其類似物。

20. 如請求項16之免疫共軛物，其中該抗體係共價連接至偵測標記且該偵測標記包含放射性核種偵測標記，其係選自^{3}H、^{11}C、^{14}C、^{18}F、^{32}P、^{35}S、^{64}Cu、^{68}Ga、^{86}Y、^{99}Tc、^{111}In、^{123}I、^{124}I、^{125}I、^{131}I、^{133}Xe、^{177}Lu、^{211}At及^{213}Bi。

21. 如請求項16至20中任一項之免疫共軛物，其中該抗體係共價連接至偵測標記且該抗體係藉由螯合配位體共價連接至該偵測標記。

22. 如請求項21之免疫共軛物，其中該螯合配位體係選自DOTA、DOTP、DOTMA、DTPA及TETA。

23. 一種免疫共軛物，其具有式Ab-(L-D)$_p$，其中：

(a) Ab為如請求項1至9中任一項之半胱胺酸工程化抗體；

(b) L為連接子；

(c) D為藥物部分；及

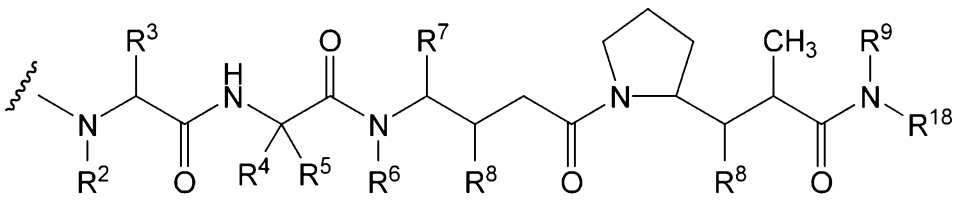
(d) p為1至8，

其中L透過該一或多個游離半胱胺酸胺基酸連接Ab至D。

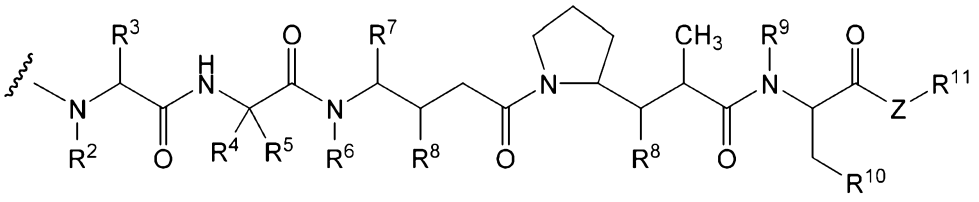
24. 如請求項23之免疫共軛物，其中L包含選自下列之一或多者之連接子：6-順丁烯二醯亞胺基己醯基(MC)、順丁烯二醯亞胺基丙醯基(MP)、纈胺酸-瓜胺酸(val-cit)、丙胺酸-苯丙胺酸(ala-phe)、對胺基苄氧羰基(PAB)、4-(2-吡啶基硫基)戊酸N-丁二醯亞胺酯(SPP)、4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1甲酸N-丁二醯亞胺酯(SMCC)、4-(2-吡啶基二硫醇)丁酸-N-羥丁二醯亞胺酯(SPDB)及(4-碘-乙醯基)胺基苯甲酸N-丁二醯亞胺酯(N-Succinimidyl(4-iodo-acetyl)aminobenzoate；SIAB)。

25. 如請求項23或24之免疫共軛物，其中D係選自由美登素類(maytansinoid)、奧瑞他汀(auristatin)及海兔毒素(dolastatin)組成之群。

26. 如請求項25之免疫共軛物，其中D係奧瑞他汀或海兔毒素，且其中D係具式DE或DF之藥物部分：



DE



DF

且其中R^2及R^6係各為甲基；R^3及R^4係各為異丙基；R^5係-H；R^7係第二丁基；R^8各自獨立地選自CH_3、O-CH_3、OH及H；R^9係H；R^{10}係芳基；Z為-O-或-NH-；R^{11}係H、C_1-C_8烷基或-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_3；且R^{18}係-C$(R^8)_2$-C$(R^8)_2$-芳基。

27. 如請求項23或24之免疫共軛物，其中D係選自MMAE及MMAF。

28. 如請求項23或24之免疫共軛物，該免疫共軛物具有式Ab-(L-MMAE)p，其中p範圍為自2至5。

29. 如請求項23或24之免疫共軛物，該免疫共軛物具有式Ab-(L-MMAF)p，其中p範圍為自2至5。

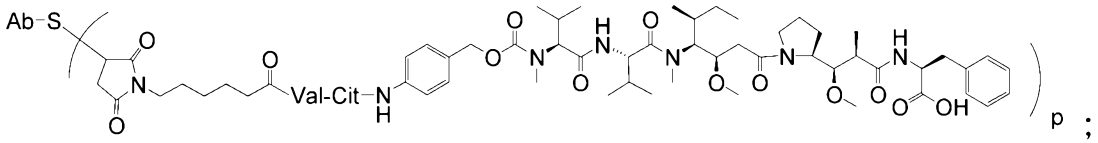
30. 如請求項23或24之免疫共軛物，其中L包含val-cit、MC、PAB及/或MC-PAB。

31. 如請求項23或24之免疫共軛物，其中L包含MC-val-cit-PAB。

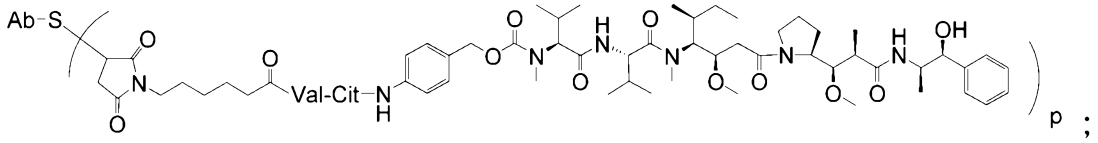
32. 如請求項23或24之免疫共軛物，其中D為美登素類。

33. 如請求項32之免疫共軛物，其中美登素類係選自DM1、DM3及DM4。

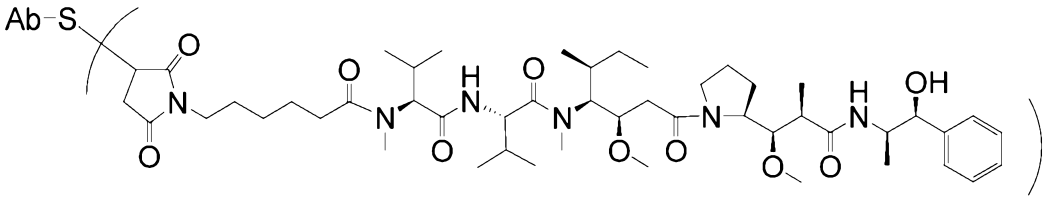
34. 如請求項23或24之免疫共軛物，其中該免疫共軛物係選自下列結構：



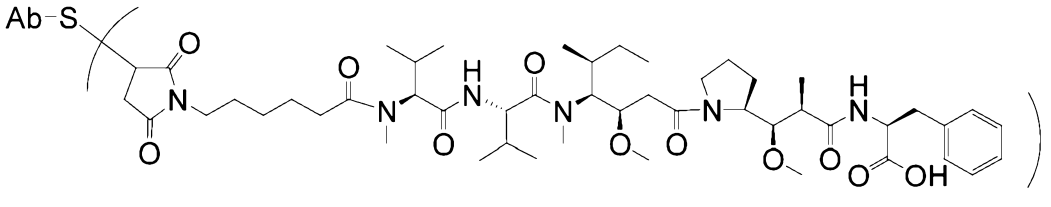
；



；

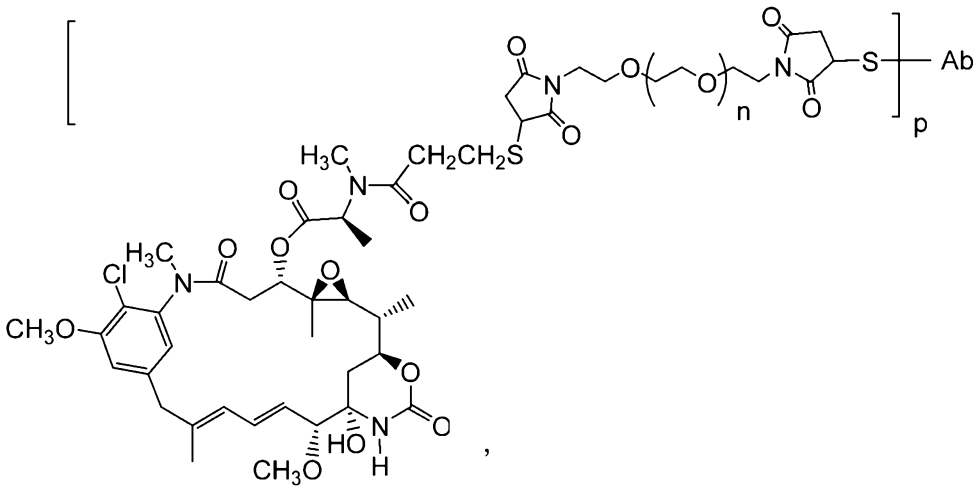


；



；

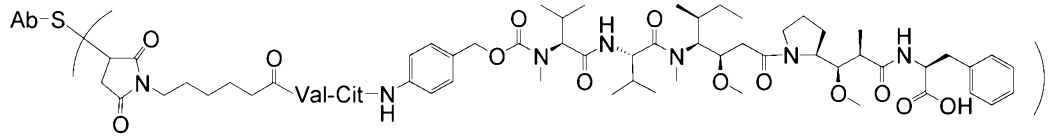
及



，

其中Val為纈胺酸且Cit為瓜胺酸。

35. 如請求項34之免疫共軛物，其中該免疫共軛物為



。

36. 如請求項23或24之免疫共軛物，其中p為自2至4或自3至4。

37. 一種醫藥組合物，其包含如請求項1至9項中任一項之抗體或如請求項23至36中任一項之免疫共軛物，及醫藥學上可接受之載劑。

38. 一種如請求項1至9項中任一項之抗體或如請求項23至36中任一項之免疫共軛物於製備藥物之用途，該藥物係用於抑制表現CD79b之細胞的生長。

39. 如請求項38之用途，其中該藥物進一步包含有效量之另一治療

劑。

40. 一種如請求項1至9項中任一項之抗體或如請求項23至36中任一項之免疫共軛物於製備藥物之用途，該藥物係用於治療增生性疾病。

41. 如請求項40之用途，其中該增生性疾病係癌症。

42. 如請求項41之用途，其中該癌症係選自淋巴瘤、骨髓瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、瀰漫性大B係胞淋巴瘤(DLBCL)、侵襲性NHL、惰性淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤(FL)、復發性侵襲性NHL、復發性惰性NHL、難治性NHL、難治性惰性NHL、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、小淋巴細胞性淋巴瘤、白血病、毛細胞白血病(HCL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)及套細胞淋巴瘤。

43. 如請求項40至42中任一項之用途，其中該藥物進一步包含有效量之另一治療劑。

44. 如請求項43之用途，其中該治療劑係選自由抗體、化學治療劑、細胞毒性劑、抗血管生成劑、免疫抑制劑、前藥、細胞激素、細胞激素拮抗劑、細胞毒性放射性療法、皮質類固醇、癌症疫苗或生長抑制劑組成之群。

45. 如請求項43之用途，其中該治療劑係選自由velcade、revlimid、他莫昔芬(tamoxifen)、來曲唑(letrozole)、依西美坦(exemestane)、安美達錠(anastrozole)、伊立替康(irinotecan)、西妥昔單抗(cetuximab)、氟維司群(fulvestrant)、長春瑞賓(vinorelbine)、埃羅替尼(erlotinib)、貝伐單抗(bevacizumab)、長春新鹼(vincristine)、伊馬替尼(imatinib)、索拉非尼(sorafenib)、拉帕替尼(lapatinib)、或曲妥珠單抗(trastuzumab)、順鉑(cisplatin)、吉西他濱(gemcitabine)、甲胺喋呤(methotrexate)、長春鹼(vinblastine)、卡鉑(carboplatin)、太平洋紫杉醇

(paclitaxel)、pemetrexed、5-氟尿嘧啶、羥道諾紅黴素(doxorubicin)、硼替佐米(bortezomib)、lenalidomide、美法侖(melphalan)、潑尼松(prednisone)、dexamethasone或多烯紫杉醇(docetaxel)。

46. 如請求項43之用途，其中該治療劑係抗-CD20抗體。

47. 如請求項43之用途，其進一步包含環磷醯胺(cyclosphosphamide)、羥道諾紅黴素(hydroxydaunorubicin)、阿黴素(adriamicin)及羥道諾紅黴素(doxorubicin)之一或多者。

48. 如請求項46之用途，其進一步包含環磷醯胺、羥道諾紅黴素、阿黴素及羥道諾紅黴素之一或多者。

49. 一種測定懷疑含有CD79b蛋白質之生物樣品中該CD79b蛋白質之存在的活體外方法，該方法包含使該樣品於活體外暴露於如請求項1至9中任一項之抗體及測定該抗體與該樣品中該CD79b蛋白質之結合，其中該抗體與該樣品中之CD79b蛋白質之結合指示該樣品中存在該蛋白質。

50. 一種用於製造包含如請求項1至9中任一項之抗-CD79b抗體(Ab)及奧瑞他汀或美登素類藥物部分(D)之抗體藥物共軛物化合物的方法，其中該抗體係經由該一或多個半胱胺酸胺基酸藉由連接子部分(L)連接於D；該化合物具有式I：

$$Ab\text{-}(L\text{-}D)_p \qquad I$$

其中p為1、2、3或4；該方法包含下列步驟：

(a)使該抗體之工程化半胱胺酸基團與連接子試劑反應以形成抗體-連接子中間物Ab-L；及

(b)使Ab-L與活化藥物部分D反應；藉此形成該抗體-藥物共軛物；

或包含下列步驟：

(c)使藥物部分之親核基團與連接子試劑反應以形成藥物-連接子中間物D-L；及

(d)使D-L與該抗體之工程化半胱胺酸基團反應；藉此形成該抗體-藥物共軛物。

51. 如請求項50之方法，其進一步包含使該抗體表現於中國倉鼠卵巢(CHO)細胞中之步驟。

52. 如請求項50或51之方法，其進一步包含用還原劑處理該表現之抗體之步驟。

53. 如請求項52之方法，其中該還原劑係選自TCEP及DTT。

54. 如請求項52之方法，其進一步包含以該還原劑處理後，用氧化劑處理該表現之抗體之步驟。

55. 如請求項53之方法，其進一步包含以該還原劑處理後，用氧化劑處理該表現之抗體之步驟。

56. 如請求項54之方法，其中該氧化劑係選自硫酸銅、脫氫抗壞血酸(dehydroascorbic acid)及空氣。

57. 一種免疫共軛物，其包含半胱胺酸工程化抗-CD79b單株抗體，其包含：包含SEQ ID NO:207之胺基酸序列的輕鏈可變域及包含SEQ ID NO:208之胺基酸序列的重鏈可變域，其中該抗體包含一或多個游離半胱胺酸胺基酸，其根據EU編號規則位於該重鏈之118位置及/或根據Kabat編號規則位於該輕鏈之205位置，以及其中該抗體係透過該一或多個游離半胱胺酸胺基酸共價連接至治療劑。

58. 一種免疫共軛物，其具有式Ab-(L-D)p，其中：

(a) Ab為半胱胺酸工程化抗體，其中該抗體為經分離之抗-CD79b單株抗體，其包含一或多個游離半胱胺酸胺基酸，其中該抗體包含：

(i) 輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO:207之胺基酸序列；及

(ii) 重鏈可變域，其包含SEQ ID NO:208之胺基酸序列；

(b) L為連接子，其中該連接子為MC-VC-PAB；

(c) D為藥物部分，其中該藥物部分為MMAE；及

(d) p為1至8，

其中該一或多個半胱胺酸胺基酸殘基係根據EU編號規則位於該重鏈之118位置及/或根據Kabat編號規則位於該輕鏈之205位置，以及其中L透過該一或多個半胱胺酸胺基酸連接Ab至D。

59. 如請求項58之免疫共軛物，其中該重鏈包含SEQ ID NO: 232之胺基酸序列且該輕鏈包含SEQ ID NO: 233之胺基酸序列。