(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 104650230 A
(43)申请公布日 2015.05.27

(21)申请号 201510052289.6
(22)申请日 2009.01.14
(30)优先权数据
61/025,137 2008.01.31 US
61/032,790 2008.02.29 US
61/054,709 2008.05.20 US
12/173,465 2008.07.15 US
PCT/US2008/070088 2008.07.15 US
(62)分案原申请数据
200980111510.3 2009.01.14
(71)申请人 健泰科生物技术公司
地址 美国加利福尼亚州
(72)发明人 伊冯娜·陈 马克·丹尼斯
戴维·多南 克里斯蒂·埃尔金斯
杰加思·R·朱纳塔拉
安德鲁·波尔森 郑冰
(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
代理人 封新琴
(51)Int.Cl.
C07K 16/28(2006.01)
A61K 39/395(2006.01)
A61K 47/48(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
G01N 33/68(2006.01)
C12Q 1/02(2006.01)

权利要求书1页 说明书233页
序列表106页 附图54页

(54)发明名称

抗CD79B抗体和免疫偶联物及使用方法

(57)摘要

本发明涉及抗CD79B抗体和免疫偶联物及使用方法。本发明致力于对于哺乳动物中造血肿瘤治疗有用的人源化的、偶联的抗CD79b抗体和使用该抗体治疗哺乳动物中造血肿瘤的方法。

CAGGGGACAGGCTGCAGCCGGTGCAGTTACACGTTTTCCTCCAAGGAGCCTCGGACGTTG
TCACGCGTTTCGCCTCCCGCACACAGCAGTCACCATGCCCACGCCTGCCGTTCTCTCGTGT
GCCCAGCCACTGGATGGTGGCGTTGCTGCTGCTGCTCTCAGCTGAGCCAGTACCAGCAGC
CAGATCGGAGGACCGGTACCGGAATCCCAAAGGTAGTGCTTGTTCGCGGATCTGGCAGAG
CCCACGTTTCATAGCCAGGAAACGGGGCTTCACGGTGAAAATGCACTGCTACATGAACAG
CGCCTCCGGCAATGTGAGCTGGCTCTGGAAGCAGGAGATGGACGAGAATCCCCAGCAGCT
GAAGCTGGAAAAGGCCGCATGGAAGAGTCCCAGAACGAATCTCTCGCCACCCTCACCAT
CCAAGGCATCCGGTTTGAGGACAATGGCATCTACTTCTGTCAGCAGAAGTGCAACAACAC
CTCGGAGGTCTACCAGGGCTGCGGCACAGAGCTGCGAGTCATGGGATTCAGCACCTTGGC
ACAGCTGAAGCAGAGGAACACGCTGAAGGATGGTATCATCATGATCCAGACGCTGCTGAT
CATCCTCTTCATCATCGTGCCTATCTTCCTGCTGCTGGACAAGGATGACAGCAAGGCTGG
CATGGAGGAAGATCACACCTACGAGGGCCTGGACATTGACCAGACAGCCACCTATGAGGA
CATAGTGACGCTGCGGACAGGGGAAGTGAAGTGGTCTGTAGGTGAGCACCCAGGCCAGGA
GTGAGAGCCAGGTCGCCCCATGACCTGGGTGCAGGCTCCCTGGCCTCAGTGACTGCTTCG
GAGCTGCCTGGCTCATGGCCCAACCCCTTTCCTGGACCCCCCAGCTGGCCTCTGAAGCTG
GCCCACCAGAGCTGCCATTTGTCTCCAGCCCCTGGTCCCCAGCTCTTGCCAAAGGGCCTG
GAGTAGAAGGACAACAGGGCAGCAACTTGGAGGGAGTTCTCTGGGGATGGACGGGACCCA
GCCTTCTGGGGGTGCTATGAGGTGATCCGTCCCCACACATGGGATGGGGGAGGCAGAGAC
TGGTCCAGAGCCCGCAAATGGACTCGGAGCCGAGGGCCTCCCAGCAGAGCTTGGGAAGGG
CCATGGACCCAACTGGGCCCCAGAAGAGCCACAGGAACATCATTCCTCTCCCGCAACCAC
TCCCACCCCAGCCAGCCCCTCCCCTCCACTCCGTTCCCCCCTCGAATAAACCCTGTCTCC
TGAGAAACCA

CN 104650230 A

1. 一种抗 CD79b 抗体，其包含：

(a) 至少一种选自下组的 HVR 序列：

(i)HVR-L1，其包含序列 A1-A15，其中 A1-A15 是 KASQSVDYDGDSFLN(SEQ ID NO:131)

(ii)HVR-L2，其包含序列 B1-B7，其中 B1-B7 是 AASNLES(SEQ ID NO:132)

(iii)HVR-L3，其包含序列 C1-C9，其中 C1-C9 是 QQSNEDPLT(SEQ ID NO:133)

(iv)HVR-H1，其包含序列 D1-D10，其中 D1-D10 是 GYTFSSYWIE(SEQ ID NO:134)

(v)HVR-H2，其包含序列 E1-E18，其中 E1-E18 是 GEILPGGGDTNYNEIFKG(SEQ ID NO:135)

(vi)HVR-H3，其包含序列 F1-F10，其中 F1-F10 是 TRRVPVYFDY(SEQ ID NO:136)；和

(b) 至少一种变异 HVR，其中所述变异 HVR 包含 SEQ ID NO:131、132、133、134、135 或 136 所示序列中的至少一个残基的修饰。

2. 一种治疗受试者中增殖性病症的方法，所述方法包括给实施受试者施用有效量的权利要求 1 的抗体。

3. 一种测定怀疑含有 CD79b 的生物学样品中 CD79b 的存在情况的方法，所述方法包括使所述样品暴露于权利要求 1 的抗体，并测定所述抗体对所述样品中 CD79b 的结合，其中所述抗体结合至所述样品中的 CD79b 指示所述样品中存在所述蛋白质。

4. 一种半胱氨酸改造抗体，其包含一个或多个游离半胱氨酸氨基酸，其中所述半胱氨酸改造抗体是通过包括用游离半胱氨酸氨基酸替换亲本抗体的一个或多个氨基酸残基的方法制备的，其中所述亲本抗体是权利要求 1 的抗体。

5. 一种半胱氨酸改造抗体，其在选自下组的一个或多个位置处包含一个或多个游离半胱氨酸氨基酸：亲本抗体中依照 Kabat 编号规则的轻链 15、110、114、121、127、168 和 205，及依照 Kabat 编号规则的重链 5、23、84、112 和依照 EU 编号规则的重链 118、120、282、375 和 400，其中所述亲本抗体是权利要求 1 的抗体。

6. 权利要求 5 的抗体，其中所述抗体是共价附着至 auristatin 或美登木素生物碱药物模块的，由此抗体药物偶联物形成。

7. 一种用于检测 B 细胞的测定法，包括：

(a) 使细胞暴露于权利要求 6 的抗体 - 药物偶联物化合物；并

(b) 测定所述抗体 - 药物偶联物化合物对所述细胞的结合程度。

8. 一种抑制细胞增殖的方法，包括用权利要求 6 的抗体 - 药物偶联物化合物处理细胞培养基中的哺乳动物癌性 B 细胞，由此所述癌性 B 细胞的增殖得到抑制。

9. 一种药物配制剂，其包含权利要求 6 的抗体 - 药物偶联物和药学可接受稀释剂、载体或赋形剂。

10. 一种治疗癌症的方法，包括给患者施用权利要求 9 的药物配制剂。

抗 CD79B 抗体和免疫偶联物及使用方法

[0001] 本申请是申请日为 2009 年 1 月 14 日、中国申请号为 200980111510.3、发明名称为“抗 CD79B 抗体和免疫偶联物及使用方法”的发明申请的分案申请。

[0002] 对相关申请的交叉引用

[0003] 依据 37CFR § 1.53(b) 提交的此非临时申请依据 35USC § 119(e) 要求 2008 年 1 月 31 日提交的美国临时申请流水号 61/025,137、2009 年 2 月 29 日提交的美国临时申请流水号 61/032,790 和 2008 年 5 月 20 日提交的美国临时申请流水号 61/054,709 的权益，通过述及完整收录每一篇。

发明领域

[0004] 本发明致力于对于哺乳动物中造血肿瘤 (hematopoietic tumor) 治疗有用的组合物和使用那些组合物治疗哺乳动物中造血肿瘤的方法。

[0005] 发明背景

[0006] 恶性肿瘤（癌症）是美国第二位死因，排在心脏病之后 (Boring 等，CA Cancel J.Clin.43:7(1993))。癌症的特征在于衍生自正常组织的赘生性细胞或异常细胞的数目增加，所述细胞增殖而形成肿瘤块，这些赘生性肿瘤细胞侵入邻近组织，和产生经称作转移的过程最终经血液或淋巴系统扩散至局部淋巴结和远端部位。在癌性状态中，细胞在正常细胞不会生长的条件下增殖。癌症自身表现为极其多种形式，特征在于不同程度的侵入性和攻击性。

[0007] 涉及造血（生成血液的细胞要素（诸如淋巴细胞、白细胞、血小板、红细胞和天然杀伤细胞）的过程）期间生成的细胞的癌症称作造血癌症。能在血液和淋巴组织中找到且对免疫应答至关重要的淋巴细胞分成两大类淋巴细胞 :B 淋巴细胞 (B 细胞）和 T 淋巴细胞 (T 细胞），它们分别介导体液和细胞介导的免疫。

[0008] B 细胞在骨髓内成熟，然后离开骨髓并在其细胞表面上表达抗原结合抗体。当幼稚 B 细胞初次遭遇其膜结合抗体对之特异性的抗原时，该细胞开始快速分裂且其后代分化成记忆 B 细胞和称作“浆细胞”的效应细胞。记忆 B 细胞具有较长的寿命并继续表达与最初的亲本细胞具有相同特异性的膜结合抗体。浆细胞不生成膜结合抗体，但改为生成可分泌形式的抗体。分泌型抗体是体液免疫的主要效应分子。

[0009] T 细胞在胸腺内成熟，胸腺为未成熟 T 细胞的增殖和分化提供环境。在 T 细胞成熟期间，T 细胞经历基因重排（这生成 T 细胞受体）及正和负选择（这有助于决定成熟 T 细胞的细胞表面表型）。成熟 T 细胞的特征性细胞表面标志物是 CD3:T 细胞受体复合物和共同受体 CD4 或 CD8 之一。

[0010] 在试图发现癌症疗法的有效细胞靶物的尝试中，研究人员试图鉴定与一种或多种正常的非癌性细胞相比在一种或多种特定类型的癌细胞的表面上特异性表达的跨膜的或以其它方式与膜结合的多肽。通常，此类膜结合多肽在癌细胞表面上表达的丰度要高于非癌性细胞表面上的。此类膜结合细胞表面抗原多肽的鉴定产生了特异性靶向癌细胞的能力，供经基于抗体的疗法进行的破坏用。在这点上，注意到基于抗体的疗法在某些癌症的治

疗中证明是非常有效的。例如，HERCEPTIN®和RITUXAN®（二者都来自Genentech公司(South San Francisco,California)）是分别已经成功用于治疗乳腺癌和非何杰金氏淋巴瘤的抗体。更具体的说，HERCEPTIN®是重组DNA衍生的人源化单克隆抗体，其选择性结合人表皮生长因子受体2(HER2)原癌基因的胞外结构域。在25-30％的原发性乳腺癌中观察到HER2蛋白过表达。RITUXAN®是遗传工程嵌合鼠/人单克隆抗体，其针对在正常和恶性B淋巴细胞的表面上找到的CD20抗原。这两种抗体都是在CHO细胞中重组生产的。

[0011] 在试图发现癌症疗法的有效细胞靶物的其它尝试中，研究人员试图鉴定(1)与一种或多种特定类型的非癌性正常细胞相比由一种或多种特定类型的癌细胞特异性生成的非膜结合的多肽，(2)由癌细胞以显著高于一种或多种非癌性细胞的表达水平生成的多肽，或(3)其表达特异性限制于只有一种（或非常有限数目的不同）组织类型的多肽，所述组织处于癌性和非癌性两种状态（例如正常前列腺和前列腺肿瘤组织）。此类多肽可以保持胞内定位，或者可以由癌细胞分泌。此外，此类多肽可以是不是由癌细胞自身表达的，而是由生成和/或分泌对癌细胞具有强化或生长增强效果的多肽的细胞表达的。此类分泌多肽常常是给癌细胞提供胜过正常细胞的生长优势的蛋白质，而且包括诸如例如血管发生因子、细胞粘附因子、生长因子等等的物质。此类非膜结合多肽的拮抗剂的鉴定预期会充当此类癌症治疗的有效治疗剂。而且，此类多肽的表达样式的鉴定对于哺乳动物中特定癌症的诊断会是有用的。

[0012] 尽管在哺乳动物癌症疗法中有了上述进展，对于能够分别检测哺乳动物中肿瘤的存在和有效抑制肿瘤性细胞生长的别的治疗剂仍然存在很大的需要。因此，本发明的一个目标是鉴定其表达特异性地局限于处于癌性和非癌性状态的单一（或非常有限数目的不同）组织类型即造血组织的，细胞膜结合的、分泌的或胞内的多肽，及使用那些多肽及其编码核酸来生成在哺乳动物中造血癌症的治疗性处理和/或检测中有用的组合物。

[0013] CD79是B细胞受体的信号传导构件，由含有CD79a(Igα，mb-1)和CD79b(Igβ，B29)的共价二聚体组成。CD79a和CD79b各含有胞外免疫球蛋白(Ig)域、跨膜域和胞内信号传导域、免疫受体基于酪氨酸的活化基序(ITAM)域。CD79在B细胞上和在非何杰金氏淋巴瘤细胞(NHL)中表达(Cabezudo et al.,Haematologica,84:413-418(1999);D'Arena et al.,Am.J.Hematol.,64:275-281(2000);Olejniczak et al.,Immunol.Invest.,35:93-114(2006))。CD79a和CD79b和sIg都是CD79的表面表达所需要的(Matsuuchi et al.,Curr.Opin.Immunol.,13(3):270-7))。CD79b在NHL上的平均表面表达与在正常B细胞上的相似，但是范围更大(Matsuuchi et al.,Curr.Opin.Immunol.,13(3):270-7(2001))。

[0014] 鉴于CD79b的表达，生成针对CD79b抗原的治疗性抗体是有益的，其在施用给患者时（尤其是用于长期治疗）产生最低限度的抗原性或不产生抗原性。本发明满足了这种需要和其它需要。本发明提供了抗CD79b抗体，其克服了当前治疗性组合物的限制且提供别的优点，这根据下文详述是显而易见的。

[0015] 抗体-药物偶联物(ADC)，即免疫偶联物在局部递送细胞毒性剂或细胞生长抑制剂，即在治疗癌症中杀伤或抑制肿瘤细胞的药物中的应用(Lambert,J.(2005)Curr.Opinion in Pharmacology 5:543-549;Wu 等(2005)Nature Biotechnology

23(9):1137-1146;Payne,G.(2003)Cancer Cell 3:207-212;Syrigos 和 Epenetos(1999) Anticancer Research 19:605-614;Niculescu-Duvaz 和 Springer(1997)Adv.Drug Del. Rev.26:151-172;US 4975278) 能够将药物模块靶向递送至肿瘤并且在其中发生胞内蓄积,其中全身给予这些未偶联的药物活性剂在对肿瘤细胞消除的同时也对正常细胞产生了不可接受水平的毒性 (Baldwin 等 (1986)Lancet pp.(Mar.15,1986):603-05; Thorpe,(1985)"Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy:A Review," — Monoclonal Antibody'84:Biological and Clinical Applications,A. Pinchera 等 (ed.s),pp.475-506)。提高 ADC 的治疗指数 (即最高的功效与最低的毒性) 的努力已经集中到多克隆抗体 (Rowland et al(1986)Cancer Immunol. Immunother.,21:183-87) 和单克隆抗体 (mAbs) 的特异性以及药物 - 连接和药物 - 释放特性上 (Lambert,J.(2005)Curr.Opinion in Pharmacology 5:543-549)。用于抗体 - 药物偶联物的药物模块包括:细菌蛋白质毒素,诸如白喉毒素,植物蛋白质毒素,诸如蓖麻毒素;小分子,诸如 auristatin、格尔德霉素 (geldanamycin)(Mandler 等 (2000)J.of the Nat.Cancer Inst.92(19):1573-1581;Mandler 等 (2000)Bioorganic&Med.Chem.Letters 10:1025-1028;Mandler 等 (2002)Bioconjugate Chem.13:786-791);美登木素生物碱 (maytansinoids)(EP 1391213;Liu 等 (1996)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 93:8618-8623); 加利车霉素 (calicheamicin)(Lode 等 (1998)Cancer Res.58:2928;Hinman 等 (1993) Cancer Res.53:3336-3342);柔红霉素 (daunomycin)、多柔比星 (doxorubicin)、甲氨蝶呤 (methotrexate) 和长春地辛 (vindesine)(Rowland 等 (1986),见上文)。药物模块可以影响细胞毒性和细胞抑制性机制,包括微管蛋白结合、DNA 结合或拓扑异构酶抑制。某些细胞毒性药物在与大的抗体或蛋白质受体配体偶联时趋向于失活或活性降低。

[0016] Auristatin 肽类,auristatin E(AE) 和 monomethyl auristatin(MMAE),多拉司他汀 (dolastatin) 的合成类似物 (WO 02/088172) 作为药物模块与下列各项偶联:(i) 嵌合单克隆抗体 cBR96(对癌上的 Lewis Y 具有特异性);(ii) 对血液恶性肿瘤上的 CD30 具有特异性的 cAC10(Klussman, 等 (2004),Bioconjugate Chemistry 15(4):765-773; Doronina 等 (2003)Nature Biotechnology21(7):778-784;Francisco 等 (2003)Blood 102(4):1458-1465;US 2004/0018194;(iii) 用于治疗表达 CD20 的癌症和免疫病变的抗 -CD20 抗体,诸如 B 细胞单克隆抗体 (rituxan)(WO 04/032828);(iv) 用于治疗结肠直肠癌的抗 -EphB2R 抗体 2H9(Mao 等 (2004)Cancer Research 64(3):781-788); (v)E- 选择蛋白抗体 (Bhaskar 等 (2003)Cancer Res.63:6387-6394);(vi) 曲妥单抗 (trastuzumab, HERCEPTIN®,US 2005/0238649);和 (vi) 其它抗 -CD30 抗体 (WO 03/043583)。auristatin E 的变体披露在 US 5767237 和 US 6124431 中。与单克隆抗体偶联的 Monoemethyl auristatin E 披露在 Senter 等的 Proceedings of the American Association for Cancer Research,Volume 45,Abstract Number 623 中,2004 年 3 月 28 日提交。Auristatin 类似物 MMAE 和 MMAF 与各种抗体偶联 (US 2005/0238649)。

[0017] 常规附着方式,即通过共价键连接,药物模块与抗体一般产生不均一的 (heterogeneous) 分子混合物,其中药物模块结合在抗体上的许多位点上。例如,细胞毒性药物一般与抗体通过抗体的通常大量的赖氨酸残基偶联,从而产生不均一的抗体 - 药物偶联物混合物。根据反应条件的不同,所述的不均一混合物一般含有抗体 0 —约 8 或 8 以上

附着的药物模块的分布。此外，在具有特定整数比的药物模块与抗体的偶联物各亚组内可能是不均一的混合物，其中药物模块结合在抗体上的不同位点上。分析和制备方法可能不足以分离和表征由偶联反应产生的不均一混合物中的抗体－药物偶联物类分子。抗体为较大的复杂的并且结构多样的生物分子，通常带有许多反应性官能基。其与接头试剂和药物－接头中间体的反应性取决于如下因素：诸如 pH、浓度、盐浓度和共溶剂。此外，多步骤偶联过程因控制反应条件和表征反应剂和中间体方面的困难而可能不可再现。

[0018] 半胱氨酸硫醇在中性 pH 具有反应性，这与在接近 pH 7 时质子化和亲核性降低的大部分胺类不同。由于游离硫醇 (RSH, 硫氢基) 具有相对的反应性，所以带有半胱氨酸残基的蛋白质通常以其作为二硫化物－连接的寡聚体的氧化形式存在或具有内部桥连的二硫化物基团。胞外蛋白一般不带有游离硫醇 (Garman, 1997, Non-Radioactive Labelling:A Practical Approach, Academic Press, London, 55 页上)。抗体半胱氨酸硫醇一般对亲电子偶联反应剂比对抗体胺或羟基更具反应性，即更具亲核性。已经通过遗传改造将半胱氨酸残基引入了蛋白质以便形成与配体的共价结合物或形成新的分子内二硫键 (Better 等 (1994) J. Biol. Chem. 13:9644-9650 ; Bernhard 等 (1994) Bioconjugate Chem. 5:126-132 ; Greenwood 等 (1994) Therapeutic Immunology 1:247-255 ; Tu 等 (1999) Proc. Natl. Acad. Sci USA 96:4862-4867 ; Kanno 等 (2000) J. of Biotechnology, 76:207-214 ; Chmura 等 (2001) Proc. Nat. Acad. Sci. USA 98(15):8480-8484 ; US 6248564)。然而，通过使蛋白质的不同氨基酸残基突变成半胱氨酸氨基酸来改造半胱氨酸硫醇可能存在问题，特别是就未配对的 (游离 Cys) 残基或那些相对易于进行反应或氧化的残基而言。在蛋白质的浓溶液中，无论是在大肠杆菌 (E. coli) 的周质中，还是在培养物上清液或部分或完全纯化的蛋白质中，蛋白质表面上的未配对的 Cys 残基可以配对并且氧化成分子内二硫化物和由此的蛋白质二聚体或多聚体。二硫化物二聚体的形成使得新的 Cys 无法与药物、配体或其它标记发生偶联反应。此外，如果蛋白质以氧化方式在新改造的 Cys 和已存在的 Cys 残基之间形成分子内二硫键，那么两种 Cys 硫醇基团对活性位点的参与和相互作用而言均无法利用。此外，可以通过错误折叠或丧失三级结构使蛋白质失活或赋予其非特异性 (Zhang 等 (2002) Anal. Biochem. 311:1-9)。

[0019] 半胱氨酸改造抗体已经设计成 Fab 抗体片段 (thioFab) 和表达成全长 IgG 单克隆 (thioMab) 抗体 (Junutula, J. R. et al. (2008) J Immunol Methods 332:41-52 ; US 2007/0092940, 通过述及收录其内容)。ThioFab 和 ThioMab 抗体经新引入的半胱氨酸硫醇处的接头与硫醇反应性接头试剂和药物－接头试剂偶联以制备抗体药物偶联物 (Thio ADC)。

[0020] 通过述及完整收录本文中引用的所有参考文献 (包括专利申请和出版物)。

[0021] 发明概述

[0022] 本发明提供了抗 CD79b 抗体或其功能性片段，及其在造血肿瘤治疗中的使用方法。

[0023] 一方面，本发明提供了一种与任何上文或下文所述多肽结合 (优选特异性结合) 的抗体。任选的是，所述抗体是单克隆抗体、抗体片段 (包括 Fab、Fab'、$F(ab')_2$ 和 Fv 片段)、双抗体、单域抗体、嵌合抗体、人源化抗体、单链抗体或竞争性抑制抗 CD79b 多肽抗体结合其相应抗原性表位的抗体。本发明的抗体可任选偶联至生长抑制剂或细胞毒剂，诸如

毒素，包括例如 auristatin、美登木素生物碱、多拉司他汀衍生物或加利车霉素、抗生素、放射性同位素、溶核酶、诸如此类。本发明的抗体可任选在 CHO 细胞或细菌细胞中生成，且优选诱导它们所结合的细胞死亡。出于检测目的，本发明的抗体可以是可检测标记的，附着至固体支持物的，诸如此类。

[0024] 一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中该抗体对 CD79b 的单价亲和力（例如 Fab 片段形式的抗体对 CD79b 的亲和力）或二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 片段形式的抗体对 CD79b 的亲和力）分别与鼠抗体（例如 Fab 片段形式或 IgG 片段形式的鼠抗体对 CD79b 的亲和力）或嵌合抗体（例如 Fab 片段形式或 IgG 片段形式的嵌合抗体对 CD79b 的亲和力）的单价亲和力或其二价形式的亲和力基本上相同，分别低于鼠抗体（例如 Fab 片段形式或 IgG 片段形式的鼠抗体对 CD79b 的亲和力）或嵌合抗体（例如 Fab 片段形式或 IgG 片段形式的嵌合抗体对 CD79b 的亲和力）的单价亲和力或其二价形式的亲和力，或分别高于鼠抗体（例如 Fab 片段形式或 IgG 片段形式的鼠抗体对 CD79b 的亲和力）或嵌合抗体（例如 Fab 片段形式或 IgG 片段形式的嵌合抗体对 CD79b 的亲和力）的单价亲和力或其二价形式的亲和力，所述鼠抗体或嵌和抗体包含图 7A-7B(SEQ ID NO:10) 和图 8A-8B(SEQ ID NO:14) 所示轻链和重链可变域序列，由图 7A-7B(SEQ ID NO:10) 和图 8A-8B(SEQ ID NO:14) 所示轻链和重链可变域序列组成，或基本上由图 7A-7B(SEQ ID NO:10) 和图 8A-8B(SEQ ID NO:14) 所示轻链和重链可变域序列组成。

[0025] 另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的该抗体对 CD79b 的亲和力）是 0.4nM、0.2nM 或 0.5nM。

[0026] 一方面，提供了一种与 CD79b 结合的抗体，其中该抗体包含至少一种、两种、三种、四种、五种或六种选自下组的 HVR：

[0027] (i)HVR-L1，其包含序列 A1-A15，其中 A1-A15 是 KASQSVDYDGDSFLN(SEQ ID NO:131)

[0028] (ii)HVR-L2，其包含序列 B1-B7，其中 B1-B7 是 AASNLES(SEQ ID NO:132)

[0029] (iii)HVR-L3，其包含序列 C1-C9，其中 C1-C9 是 QQSNEDPLT(SEQ ID NO:133)

[0030] (iv)HVR-H1，其包含序列 D1-D10，其中 D1-D10 是 GYTFSSYWIE(SEQ ID NO:134)

[0031] (v)HVR-H2，其包含序列 E1-E18，其中 E1-E18 是 GEILPGGGDTNYNEIFKG(SEQ ID NO:135) 和

[0032] (vi)HVR-H3，其包含序列 F1-F10，其中 F1-F10 是 TRRVPVYFDY(SEQ ID NO:136)。

[0033] 一方面，提供了一种与 CD79b 结合的抗体，其中该抗体包含至少一种变异 HVR，其中所述变异 HVR 序列包含 SEQ ID NO:131、132、133、134、135 或 136 所示序列中的至少一个残基的修饰。

[0034] 一方面，本发明提供了一种抗体，其包含重链可变域，该重链可变域包含图 15(SEQ ID NO:164-166) 所示 HVR1-HC、HVR2-HC 和 / 或 HVR3-HC 序列。

[0035] 一方面，本发明提供了一种抗体，其包含轻链可变域，该轻链可变域包含图 15(SEQ ID NO:156-158) 所示 HVR1-LC、HVR2-LC 和 / 或 HVR3-LC 序列。

[0036] 一方面，本发明提供了一种抗体，其包含重链可变域，该重链可变域包含图 16(SEQ ID NO:183-185) 所示 HVR1-HC、HVR2-HC 和 / 或 HVR3-HC 序列。

[0037] 一方面，本发明提供了一种抗体，其包含轻链可变域，该轻链可变域包含图 16(SEQ

ID NO:175-177) 所示 HVR1-LC、HVR2-LC 和 / 或 HVR3-LC 序列。

[0038] 一方面，本发明提供了一种抗体，其包含重链可变域，该重链可变域包含图 17(SEQ ID NO:202-204) 所示 HVR1-HC、HVR2-HC 和 / 或 HVR3-HC 序列。

[0039] 一方面，本发明提供了一种抗体，其包含轻链可变域，该轻链可变域包含图 17(SEQ ID NO:194-196) 所示 HVR1-LC、HVR2-LC 和 / 或 HVR3-LC 序列。

[0040] 一方面，本发明提供了一种抗体，其包含重链可变域，该重链可变域包含图 18(SEQ ID NO:221-223) 所示 HVR1-HC、HVR2-HC 和 / 或 HVR3-HC 序列。

[0041] 一方面，本发明提供了一种抗体，其包含轻链可变域，该轻链可变域包含图 18(SEQ ID NO:213-215) 所示 HVR1-LC、HVR2-LC 和 / 或 HVR3-LC 序列。

[0042] 一方面，本发明包括一种抗 CD79b 抗体，其包含选自 SEQ ID NO:170、189、208 或 227 的重链可变域。

[0043] 另一方面，本发明包括一种抗 CD79b 抗体，其包含选自 SEQ ID NO:169、188、207 或 226 的轻链可变域。

[0044] 一方面，本发明包括一种半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体，其包含一个或多个游离半胱氨酸氨基酸和选自 SEQ ID NO:251-298 的序列。所述半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体可以与 CD79b 多肽结合。所述半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体可以通过包括用半胱氨酸替换亲本抗 CD79b 抗体的一个或多个氨基酸残基的方法来制备。

[0045] 一方面，本发明包括一种半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体，其包含一个或多个游离半胱氨酸氨基酸，其中所述半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体与 CD79b 多肽结合且是通过包括用半胱氨酸替换亲本抗 CD79b 抗体的一个或多个氨基酸残基的方法制备的，其中所述亲本抗体包含至少一种选自下组的 HVR 序列：

[0046] (a)HVR-L1，其包含序列 A1-A15，其中 A1-A15 是 KASQSVDYDGDSFLN(SEQ ID NO:131) 或 KASQSVDYEGDSFLN(SEQ ID NO:137)

[0047] (b)HVR-L2，其包含序列 B1-B7，其中 B1-B7 是 AASNLES(SEQ ID NO:132)

[0048] (c)HVR-L3，其包含序列 C1-C9，其中 C1-C9 是 QQSNEDPLT(SEQ ID NO:133)

[0049] (d)HVR-H1，其包含序列 D1-D10，其中 D1-D10 是 GYTFSSYWIE(SEQ ID NO:134)

[0050] (e)HVR-H2，其包含序列 E1-E18，其中 E1-E18 是 GEILPGGGDTNYNEIFKG(SEQ ID NO:135) 和

[0051] (f)HVR-H3，其包含序列 F1-F10，其中 F1-F10 是 TRRVPVYFDY(SEQ ID NO:136) 或 TRRVPIRLDY(SEQ ID NO:138)。

[0052] 所述半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体可以是单克隆抗体、抗体片段、嵌合抗体、人源化抗体、单链抗体或竞争性抑制抗 CD79b 多肽抗体结合其相应抗原性表位的抗体。本发明的抗体可任选偶联至生长抑制剂或细胞毒剂，诸如毒素，包括例如 auristatin 或美登木素生物碱。本发明的抗体可任选在 CHO 细胞或细菌细胞中生成，且优选抑制它们所结合的细胞生长或增殖或诱导它们所结合的细胞死亡。出于诊断目的，本发明的抗体可以是可检测标记的，附着至固体支持物的，诸如此类。

[0053] 一方面，本发明提供了制备本发明抗体的方法。例如，本发明提供了一种制备 CD79b 抗体（如本文中所定义的，其包括全长抗体及其片段）的方法，所述方法包括在合适的宿主细胞中表达编码所述抗体（或其片段）的本发明重组载体，并回收所述抗体。

[0054] 一方面，本发明是一种药物配制剂，其包含本发明的抗体或本发明的抗体 - 药物偶联物，及药学可接受稀释剂、载体或赋形剂。

[0055] 一方面，本发明提供了一种制品，其包含容器；和装在该容器内的组合物，其中所述组合物包含一种或多种本发明的 CD79b 抗体。

[0056] 一方面，本发明提供了一种试剂盒，其包含第一容器，其中装有包含一种或多种本发明 CD79b 抗体的组合物；及第二容器，其中装有缓冲液。

[0057] 一方面，本发明提供了本发明的 CD79b 抗体在制备用于治疗性和 / 或预防性处理疾病（诸如癌症、肿瘤和 / 或细胞增殖性病症）的药物中的用途。

[0058] 一方面，本发明提供了本发明的制品在制备用于治疗性和 / 或预防性处理疾病（诸如癌症、肿瘤和 / 或细胞增殖性病症）的药物中的用途。

[0059] 一方面，本发明提供了本发明的试剂盒在制备用于治疗性和 / 或预防性处理疾病（诸如癌症、肿瘤和 / 或细胞增殖性病症）的药物中的用途。

[0060] 一方面，本发明提供了一种抑制表达 CD79b 的细胞生长的方法，所述方法包括使所述细胞接触本发明的抗体，由此引起对所述细胞生长的抑制。在一个实施方案中，所述抗体是偶联至细胞毒剂的。在一个实施方案中，所述抗体是偶联至生长抑制剂的。

[0061] 一方面，本发明提供了一种治疗性处理患有癌性肿瘤（所述癌性肿瘤包含表达 CD79b 的细胞）的哺乳动物的方法，所述方法包括给所述哺乳动物施用治疗性有效量的本发明抗体，由此有效治疗所述哺乳动物。在一个实施方案中，所述抗体是偶联至细胞毒剂的。在一个实施方案中，所述抗体是偶联至生长抑制剂的。

[0062] 一方面，本发明提供了一种用于治疗或预防与 CD79b 表达升高有关的细胞增殖性病症的方法，所述方法包括给需要此类治疗的受试者施用有效量的本发明抗体，由此有效治疗或预防所述细胞增殖性病症。在一个实施方案中，所述增殖性病症是癌症。在一个实施方案中，所述抗体是偶联至细胞毒剂的。在一个实施方案中，所述抗体是偶联至生长抑制剂的。

[0063] 一方面，本发明提供了一种用于抑制细胞生长的方法，其中所述细胞的生长至少部分依赖于 CD79b 的生长强化效应，所述方法包括使所述细胞接触有效量的本发明抗体，由此抑制所述细胞的生长。在一个实施方案中，所述抗体是偶联至细胞毒剂的。在一个实施方案中，所述抗体是偶联至生长抑制剂的。

[0064] 一方面，本发明提供了一种治疗性处理哺乳动物中的肿瘤的方法，其中所述肿瘤的生长至少部分依赖于 CD79b 的生长强化效应，所述方法包括使所述细胞接触有效量的本发明抗体，由此有效治疗所述肿瘤。在一个实施方案中，所述抗体是偶联至细胞毒剂的。在一个实施方案中，所述抗体是偶联至生长抑制剂的。

[0065] 一方面，本发明提供了一种治疗癌症的方法，包括给患者施用药物配制剂，该药物配制剂包含本文所述免疫偶联物、可接受的稀释剂、载体或赋形剂。

[0066] 一方面，本发明提供了一种抑制 B 细胞增殖的方法，包括在允许下述免疫偶联物结合至 CD79b 的条件下使细胞暴露于包含本发明抗体的免疫偶联物。

[0067] 一方面，本发明提供了一种测定怀疑含有 CD79b 的样品中 CD79b 的存在情况的方法，所述方法包括使所述样品暴露于本发明的抗体，并测定所述抗体对所述样品中 CD79b 的结合，其中所述抗体结合所述样品中的 CD79b 指示所述样品中存在所述蛋白质。

[0068] 一方面，本发明提供了一种诊断与表达 CD79b 的细胞（诸如 B 细胞）增多有关的细胞增殖性病症的方法，所述方法包括使生物学样品中的测试细胞接触任何上述抗体；通过检测所述抗体对 CD79b 的结合来测定结合至所述样品中测试细胞的抗体的水平；并比较结合至对照样品中细胞的抗体的水平，其中将所结合的抗体的水平相对于测试和对照样品中表达 CD79b 的细胞的数目标准化，且其中测试样品中所结合的抗体的水平高于对照样品指明存在与表达 CD79b 的细胞有关的细胞增殖性病症。

[0069] 一方面，本发明提供了一种检测血液或血清中可溶性 CD79b 的方法，所述方法包括使来自怀疑经历 B 细胞增殖性病症的哺乳动物的血液或血清测试样品接触本发明的抗 CD79b 抗体，并检测测试样品中可溶性 CD79b 相对于来自正常哺乳动物的血液或血清对照样品的升高。

[0070] 一方面，本发明提供了一种使本发明的抗体结合至表达 CD79b 的细胞的方法，所述方法包括使所述细胞接触本发明的抗体。在一个实施方案中，所述抗体是偶联至细胞毒剂的。在一个实施方案中，所述抗体是偶联至生长抑制剂的。

[0071] 本发明涉及下述各项。

[0072] 1. 一种抗 CD79b 抗体，其包含：

[0073] (a) 至少一种选自下组的 HVR 序列：

[0074] (i)HVR-L1，其包含序列 A1-A15，其中 A1-A15 是 KASQSVDYDGDSFLN(SEQ ID NO:131)

[0075] (ii)HVR-L2，其包含序列 B1-B7，其中 B1-B7 是 AASNLES(SEQ ID NO:132)

[0076] (iii)HVR-L3，其包含序列 C1-C9，其中 C1-C9 是 QQSNEDPLT(SEQ ID NO:133)

[0077] (iv)HVR-H1，其包含序列 D1-D10，其中 D1-D10 是 GYTFSSYWIE(SEQ ID NO:134)

[0078] (v)HVR-H2，其包含序列 E1-E18，其中 E1-E18 是 GEILPGGGDTNYNEIFKG(SEQ ID NO:135)

[0079] (vi)HVR-H3，其包含序列 F1-F10，其中 F1-F10 是 TRRVPVYFDY(SEQ ID NO:136)；和

[0080] (b) 至少一种变异 HVR，其中所述变异 HVR 包含 SEQ ID NO:131、132、133、134、135 或 136 所示序列中的至少一个残基的修饰。

[0081] 2. 项 1 的抗体，其中变异 HVR-H3 中的 F6 是 I，F7 是 R 且 F8 是 L。

[0082] 3. 项 1 或 2 的抗体，其中变异 HVR-L1 中的 A9 是 E 或 S。

[0083] 4. 项 1 的抗体，其中框架序列的至少一部分是人共有框架序列。

[0084] 5. 项 1 的抗体，其中所述修饰是替代、插入或删除。

[0085] 6. 项 1 的抗体，其中 HVR-L1 变体在任何下列位置中包含一处替代：A4(K)、A9(E 或 S) 和 A10(A 或 S)。

[0086] 7. 项 1 的抗体，其中 HVR-L2 变体在下列位置的任何一个或组合中包含 1-5(1、2、3、4 或 5) 处替代：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) 和 B7(R、N、T 或 G)。

[0087] 8. 项 1 的抗体，其中 HVR-L3 变体在下列位置的任何一个或组合中包含 1-4(1、2、3 或 4) 处替代：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) 和 C9(N)。

[0088] 9. 项 1 的抗体，其中 HVR-H1 变体在下列位置的任何一个或组合中包含 1-7(1、2、

3、4、5、6 或 7) 处替代 :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) 和 D10(S、Q、N 或 D)。

[0089] 10. 项 1 的抗体,其中 HVR-H3 变体在下列位置的任何一个或组合中包含 1-3(1、2 或 3) 处替代 :F4(R 或 I)、F6(I 或 F)、F7(K、C、R、V 或 F)、F8(L) 和 F9(S)。

[0090] 11. 项 1 的抗体,其包含具有序列 SEQ ID NO:135 的 HVR-H2。

[0091] 12. 项 1 的抗体,其中变异 HVR-H3 中的 F6 是 I。

[0092] 13. 项 1 的抗体,其中变异 HVR-H3 中的 F7 是 R。

[0093] 14. 项 1 的抗体,其中变异 HVR-H3 中的 F8 是 L。

[0094] 15. 项 1 的抗体,其中变异 HVR-L1 中的 A9 是 E。

[0095] 16. 项 1 的抗体,其中变异 HVR-L1 中的 A9 是 S。

[0096] 17. 一种人源化抗 CD79b 抗体,其中该抗体对人 CD79b 的单价亲和力与包含图 7A-7B(SEQ ID NO:10) 和图 8A-8B(SEQ ID NO:14) 所示轻链和重链可变序列的鼠抗体的单价亲和力基本上相同。

[0097] 18. 一种人源化抗 CD79b 抗体,其中该抗体对人 CD79b 的单价亲和力比包含图 7A-7B(SEQ ID NO:10) 和图 8A-8B(SEQ ID NO:14) 所示轻链和重链可变序列的鼠抗体或嵌合抗体的单价亲和力高至少 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 倍。

[0098] 19. 一种人源化抗 CD79b 抗体,其中该抗体对人 CD79b 的单价亲和力比包含图 7A-7B(SEQ ID NO:10) 和图 8A-8B(SEQ ID NO:14) 所示轻链和重链可变序列的鼠抗体或嵌合抗体的单价亲和力低至少 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。

[0099] 20. 项 17-19 的人源化抗体,其中所述鼠抗体是由于 1993 年 7 月 20 日作为 HB11413 保藏于 ATCC 的杂交瘤细胞系生成的。

[0100] 21. 一种人源化抗 CD79b 抗体,其中二价形式的该抗体对人 CD79b 的亲和力与二价形式的且包含图 7A-7B(SEQ ID NO:10) 和图 8A-8B(SEQ ID NO:14) 所示轻链和重链可变序列的鼠抗体的亲和力基本上相同。

[0101] 22. 一种人源化抗 CD79b 抗体,其中二价形式的该抗体对人 CD79b 的亲和力比二价形式的且包含图 7A-7B(SEQ ID NO:10) 和图 8A-8B(SEQ ID NO:14) 所示轻链和重链可变序列的鼠抗体或嵌合抗体的亲和力高至少 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 倍。

[0102] 23. 一种人源化抗 CD79b 抗体,其中二价形式的该抗体对人 CD79b 的亲和力比二价形式的且包含图 7A-7B(SEQ ID NO:10) 和图 8A-8B(SEQ ID NO:14) 所示轻链和重链可变序列的鼠抗体或嵌合抗体的亲和力低至少 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。

[0103] 24. 一种人源化抗 CD79b 抗体,其中二价形式的该抗体对人 CD79b 的亲和力是 0.4nM。

[0104] 25. 项 24 的人源化抗 CD79 抗体,其中二价形式的该抗体对人 CD79b 的亲和力是 0.4nM+/-.04。

[0105] 26. 一种人源化抗 CD79b 抗体,其中二价形式的该抗体对人 CD79b 的亲和力是 0.2nM。

[0106] 27. 项 26 的人源化抗 CD79 抗体,其中二价形式的该抗体对人 CD79b 的亲和力是

0.2nM+/-.02。

[0107] 28. 一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对人 CD79b 的亲和力是 0.5nM。

[0108] 29. 项 28 的人源化抗 CD79 抗体，其中二价形式的该抗体对人 CD79b 的亲和力是 0.5nM+/-0.1。

[0109] 30. 项 17-29 任一项的抗体，其中所述结合亲和力表述成 Kd 值。

[0110] 31. 项 17-29 任一项的抗体，其中所述结合亲和力是通过 Biacore 或放射免疫测定法测量的。

[0111] 32. 项 1-3 任一项的抗体，其包含人 κ 亚组 1 共有框架序列。

[0112] 33. 项 1-3 任一项的抗体，其包含重链人亚组 III 共有框架序列。

[0113] 34. 项 33 的抗体，其中所述框架序列在第 71 位、第 73 位和 / 或第 78 位包含替代。

[0114] 35. 项 34 的抗体，其中所述替代是 R71A、N73T 和 / 或 L78A。

[0115] 36. 项 35 的抗体，其中所述框架序列在第 48 位、第 67 位、第 69 位、第 71 位、第 73 位和 / 或第 78 位包含替代。

[0116] 37. 项 36 的抗体，其中所述替代是 V48I、F67A、I69F、R71A、N73T 和 / 或 L78A。

[0117] 38. 项 33 的抗体，其中所述框架序列在第 48 位、第 67 位、第 69 位、第 71 位、第 73 位、第 75 位、第 78 位和 / 或第 80 位包含替代。

[0118] 39. 项 38 的抗体，其中所述替代是 V48I、F67A、I69F、R71A、N73T、K75S、L78A 和 / 或 L80M。

[0119] 40. 项 32 的抗体，其中所述框架序列在第 4 位包含替代。

[0120] 41. 项 40 的抗体，其中所述替代是 M4L。

[0121] 42. 项 32 的抗体，其中所述框架序列在第 47 位包含替代。

[0122] 43. 项 42 的抗体，其中所述替代是 L47F。

[0123] 44. 项 32 的抗体，其中所述框架序列在第 4 位和 / 或第 47 位包含替代。

[0124] 45. 项 44 的抗体，其中所述替代是 M4L 和 / 或 L47F。

[0125] 46. 一种人源化抗 CD79b 抗体，其中该人源化抗体在偶联至细胞毒剂时抑制肿瘤细胞生长。

[0126] 47. 前述项任一项的抗体，其中所述人源化抗体和嵌合抗体均是单价的或二价的。

[0127] 48. 前述项任一项的抗体，其中所述人源化抗体和嵌合抗体均包含连接至 Fc 区的单一 Fab 区。

[0128] 49. 一种抗体，其包含重链可变域，该重链可变域包含图 15(SEQ ID NO:164-166) 所示 HVR1-HC、HVR2-HC 和 / 或 HVR3-HC 序列。

[0129] 50. 项 49 的抗体，其中所述可变域包含图 15(SEQ ID NO:160-163) 所示 FR1-HC、FR2-HC、FR3-HC 和 / 或 FR4-HC 序列。

[0130] 51. 项 49 或 50 的抗体，其中所述抗体包含图 15(SEQ ID NO:167 和 / 或 168) 所示 CH1 和 / 或 Fc 序列。

[0131] 52. 一种抗体，其包含轻链可变域，该轻链可变域包含图 15(SEQ ID NO:156-158) 所示 HVR1-LC、HVR2-LC 和 / 或 HVR3-LC 序列。

[0132] 53. 项 52 的抗体，其中所述可变域包含图 15(SEQ ID NO:152-155) 所示 FR1-LC、

FR2-LC、FR3-LC 和 / 或 FR4-LC 序列。

[0133] 54. 项 52 或 53 的抗体，其中所述抗体包含图 15(SEQ ID NO:159) 所示 CL1 序列。

[0134] 55. 包含图 15(SEQ ID NO:170) 所示序列的多肽。

[0135] 56. 包含图 15(SEQ ID NO:169) 所示序列的多肽。

[0136] 57. 通过如下方法生成的抗体 ：

[0137] (a) 培养表达包含项 49-51 任一项的重链可变域和项 52-54 任一项的轻链可变域的抗体的细胞 ；并

[0138] (b) 自所述培养细胞分离所述抗体。

[0139] 58. 一种抗体，其包含项 49-51 任一项的重链可变域和项 52-54 任一项的轻链可变域。

[0140] 59. 项 58 的抗体，其中所述抗体是单价的且包含 Fc 区。

[0141] 60. 一种抗体，其包含重链可变域，该重链可变域包含图 16(SEQ ID NO:183-185) 所示 HVR1-HC、HVR2-HC 和 / 或 HVR3-HC 序列。

[0142] 61. 项 60 的抗体，其中所述可变域包含图 16(SEQ ID NO:179-182) 所示 FR1-HC、FR2-HC、FR3-HC 和 / 或 FR4-HC 序列。

[0143] 62. 项 60 或 61 的抗体，其中所述抗体包含图 16(SEQ ID NO:186 和 / 或 187) 所示 CH1 和 / 或 Fc 序列。

[0144] 63. 一种抗体，其包含轻链可变域，该轻链可变域包含图 16(SEQ ID NO:175-177) 所示 HVR1-LC、HVR2-LC 和 / 或 HVR3-LC 序列。

[0145] 64. 项 63 的抗体，其中所述可变域包含图 16(SEQ ID NO:171-174) 所示 FR1-LC、FR2-LC、FR3-LC 和 / 或 FR4-LC 序列。

[0146] 65. 项 63 或 64 的抗体，其中所述抗体包含图 16(SEQ ID NO:178) 所示 CL1 序列。

[0147] 66. 包含图 16(SEQ ID NO:189) 所示序列的多肽。

[0148] 67. 包含图 16(SEQ ID NO:188) 所示序列的多肽。

[0149] 68. 通过如下方法生成的抗体 ：

[0150] (a) 培养表达包含项 60-62 任一项的重链可变域和项 63-65 任一项的轻链可变域的抗体的细胞 ；并

[0151] (b) 自所述培养细胞分离所述抗体。

[0152] 69. 一种抗体，其包含项 60-62 任一项的重链可变域和项 63-65 任一项的轻链可变域。

[0153] 70. 项 69 的抗体，其中所述抗体是单价的且包含 Fc 区。

[0154] 71. 一种抗体，其包含重链可变域，该重链可变域包含图 17(SEQ ID NO:202-204) 所示 HVR1-HC、HVR2-HC 和 / 或 HVR3-HC 序列。

[0155] 72. 项 71 的抗体，其中所述可变域包含图 17(SEQ ID NO:198-201) 所示 FR1-HC、FR2-HC、FR3-HC 和 / 或 FR4-HC 序列。

[0156] 73. 项 71 或 72 的抗体，其中所述抗体包含图 17(SEQ ID NO:205 和 / 或 206) 所示 CH1 和 / 或 Fc 序列。

[0157] 74. 一种抗体，其包含轻链可变域，该轻链可变域包含图 17(SEQ ID NO:194-196) 所示 HVR1-LC、HVR2-LC 和 / 或 HVR3-LC 序列。

[0158] 75. 项 74 的抗体，其中所述可变域包含图 17(SEQ ID NO:190-193) 所示 FR1-LC、FR2-LC、FR3-LC 和 / 或 FR4-LC 序列。

[0159] 76. 项 74 或 75 的抗体，其中所述抗体包含图 17(SEQ ID NO:197) 所示 CL1 序列。

[0160] 77. 包含图 8A-8B(SEQ ID NO:208) 所示序列的多肽。

[0161] 78. 包含图 7A-7B(SEQ ID NO:207) 所示序列的多肽。

[0162] 79. 通过如下方法生成的抗体 ：

[0163] (a) 培养表达包含项 71-73 任一项的重链可变域和项 74-76 任一项的轻链可变域的抗体的细胞 ；并

[0164] (b) 自所述培养细胞分离所述抗体。

[0165] 80. 一种抗体，其包含项 71-73 任一项的重链可变域和项 74-76 任一项的轻链可变域。

[0166] 81. 项 80 的抗体，其中所述抗体是单价的且包含 Fc 区。

[0167] 82. 一种抗体，其包含重链可变域，该重链可变域包含图 18(SEQ ID NO:221-223) 所示 HVR1-HC、HVR2-HC 和 / 或 HVR3-HC 序列。

[0168] 83. 项 82 的抗体，其中所述可变域包含图 18(SEQ ID NO:217-220) 所示 FR1-HC、FR2-HC、FR3-HC 和 / 或 FR4-HC 序列。

[0169] 84. 项 82 或 83 的抗体，其中所述抗体包含图 18(SEQ ID NO:224 和 / 或 225) 所示 CH1 和 / 或 Fc 序列。

[0170] 85. 一种抗体，其包含轻链可变域，该轻链可变域包含图 18(SEQ ID NO:213-215) 所示 HVR1-LC、HVR2-LC 和 / 或 HVR3-LC 序列。

[0171] 86. 项 85 的抗体，其中所述可变域包含图 18(SEQ ID NO:209-212) 所示 FR1-LC、FR2-LC、FR3-LC 和 / 或 FR4-LC 序列。

[0172] 87. 项 85 或 86 的抗体，其中所述抗体包含图 18(SEQ ID NO:216) 所示 CL1 序列。

[0173] 88. 包含图 18(SEQ ID NO:227) 所示序列的多肽。

[0174] 89. 包含图 18(SEQ ID NO:226) 所示序列的多肽。

[0175] 90. 通过如下方法生成的抗体 ：

[0176] (a) 培养表达包含项 82-84 任一项的重链可变域和项 85-87 任一项的轻链可变域的抗体的细胞 ；并

[0177] (b) 自所述培养细胞分离所述抗体。

[0178] 91. 一种抗体，其包含项 82-84 任一项的重链可变域和项 85-87 任一项的轻链可变域。

[0179] 92. 项 91 的抗体，其中所述抗体是单价的且包含 Fc 区。

[0180] 93. 项 1 的抗体，其中所述抗体包含与选自 SEQ ID NO:169 的氨基酸序列具有至少 90％氨基酸序列同一性的轻链可变域。

[0181] 94. 项 1 的抗体，其中所述抗体包含与选自 SEQ ID NO:170 的氨基酸序列具有至少 90％氨基酸序列同一性的重链可变域。

[0182] 95. 项 1 的抗体，其中所述抗体包含与选自 SEQ ID NO:188 的氨基酸序列具有至少 90％氨基酸序列同一性的轻链可变域。

[0183] 96. 项 1 的抗体，其中所述抗体包含与选自 SEQ ID NO:189 的氨基酸序列具有至少

90％氨基酸序列同一性的重链可变域。

[0184] 97. 项 1 的抗体，其中所述抗体包含与选自 SEQ ID NO:207 的氨基酸序列具有至少 90％氨基酸序列同一性的轻链可变域。

[0185] 98. 项 1 的抗体，其中所述抗体包含与选自 SEQ ID NO:208 的氨基酸序列具有至少 90％氨基酸序列同一性的重链可变域。

[0186] 99. 项 1 的抗体，其中所述抗体包含与选自 SEQ ID NO:226 的氨基酸序列具有至少 90％氨基酸序列同一性的轻链可变域。

[0187] 100. 项 1 的抗体，其中所述抗体包含与选自 SEQ ID NO:227 的氨基酸序列具有至少 90％氨基酸序列同一性的重链可变域。

[0188] 101. 项 1 的抗体，其中所述抗体包含重链可变域，该重链可变域包含一种、两种、三种或四种选自 SEQ ID NO:143、144、145 和 146 的框架氨基酸序列。

[0189] 102. 项 1 的抗体，其中所述抗体包含轻链可变域，该轻链可变域包含一种、两种、三种或四种选自 SEQ ID NO:139、140、141 和 142 的框架氨基酸序列。

[0190] 103. 项 1 的抗体，其中所述抗体包含重链可变域，该重链可变域包含一种、两种、三种或四种与选自 SEQ ID NO:143、144、145 和 146 的氨基酸序列具有至少 90％氨基酸序列同一性的框架氨基酸序列。

[0191] 104. 项 1 的抗体，其中所述抗体包含轻链可变域，该轻链可变域包含一种、两种、三种或四种与选自 SEQ ID NO:139、140、141 和 142 的氨基酸序列具有至少 90％氨基酸序列同一性的框架氨基酸序列。

[0192] 105. 项的抗体 93，其中所述抗体包含与选自 SEQ ID NO:170 的氨基酸序列具有至少 90％氨基酸序列同一性的重链可变域。

[0193] 106. 项的抗体 94，其中所述抗体包含与选自 SEQ ID NO:169 的氨基酸序列具有至少 90％氨基酸序列同一性的轻链可变域。

[0194] 107. 项的抗体 95，其中所述抗体包含与选自 SEQ ID NO:189 的氨基酸序列具有至少 90％氨基酸序列同一性的重链可变域。

[0195] 108. 项的抗体 96，其中所述抗体包含与选自 SEQ ID NO:188 的氨基酸序列具有至少 90％氨基酸序列同一性的轻链可变域。

[0196] 109. 项的抗体 97，其中所述抗体包含与选自 SEQ ID NO:208 的氨基酸序列具有至少 90％氨基酸序列同一性的重链可变域。

[0197] 110. 项的抗体 98，其中所述抗体包含与选自 SEQ ID NO:207 的氨基酸序列具有至少 90％氨基酸序列同一性的轻链可变域。

[0198] 111. 项的抗体 99，其中所述抗体包含与选自 SEQ ID NO:227 的氨基酸序列具有至少 90％氨基酸序列同一性的重链可变域。

[0199] 112. 项 100 的抗体，其中所述抗体包含与选自 SEQ ID NO:226 的氨基酸序列具有至少 90％氨基酸序列同一性的轻链可变域。

[0200] 113. 一种与 CD79b 结合的抗体，其中所述抗体包含与氨基酸序列 SEQ ID NO:170 具有至少 90％序列同一性的重链可变域。

[0201] 114. 一种与 CD79b 结合的抗体，其中所述抗体包含与氨基酸序列 SEQ ID NO:169 具有至少 90％序列同一性的轻链可变域。

[0202] 115. 一种与 CD79b 结合的抗体，其中所述抗体包含与氨基酸序列 SEQ ID NO:170 具有至少 90％序列同一性的重链可变域和与氨基酸序列 SEQ ID NO:169 具有至少 90％序列同一性的轻链可变域。

[0203] 116. 一种与 CD79b 结合的抗体，其中所述抗体包含与氨基酸序列 SEQ ID NO:189 具有至少 90％序列同一性的重链可变域。

[0204] 117. 一种与 CD79b 结合的抗体，其中所述抗体包含与氨基酸序列 SEQ ID NO:188 具有至少 90％序列同一性的轻链可变域。

[0205] 118. 一种与 CD79b 结合的抗体，其中所述抗体包含与氨基酸序列 SEQ ID NO:189 具有至少 90％序列同一性的重链可变域和与氨基酸序列 SEQ ID NO:188 具有至少 90％序列同一性的轻链可变域。

[0206] 119. 一种与 CD79b 结合的抗体，其中所述抗体包含与氨基酸序列 SEQ ID NO:208 具有至少 90％序列同一性的重链可变域。

[0207] 120. 一种与 CD79b 结合的抗体，其中所述抗体包含与氨基酸序列 SEQ ID NO:207 具有至少 90％序列同一性的轻链可变域。

[0208] 121. 一种与 CD79b 结合的抗体，其中所述抗体包含与氨基酸序列 SEQ ID NO:208 具有至少 90％序列同一性的重链可变域和与氨基酸序列 SEQ ID NO:207 具有至少 90％序列同一性的轻链可变域。

[0209] 122. 一种与 CD79b 结合的抗体，其中所述抗体包含与氨基酸序列 SEQ ID NO:227 具有至少 90％序列同一性的重链可变域。

[0210] 123. 一种与 CD79b 结合的抗体，其中所述抗体包含与氨基酸序列 SEQ ID NO:226 具有至少 90％序列同一性的轻链可变域。

[0211] 124. 一种与 CD79b 结合的抗体，其中所述抗体包含与氨基酸序列 SEQ ID NO:227 具有至少 90％序列同一性的重链可变域和与氨基酸序列 SEQ ID NO:226 具有至少 90％序列同一性的轻链可变域。

[0212] 125. 一种多核苷酸，其编码项 1、6-10、58、69、80、91、115、118、121、124、251 或 258 的抗体。

[0213] 126. 一种载体，其包含项 125 的多核苷酸。

[0214] 127. 一种宿主细胞，其包含项 126 的载体。

[0215] 128. 一种制备抗 CD79b 抗体的方法，其中该方法包括：(a) 在适合于编码所述抗体的多核苷酸表达的条件下培养选自下组的宿主细胞：真核细胞和 CHO 细胞，并 (b) 分离所述抗体。

[0216] 129. 项 1、6-10、58、69、80、91、115、118、121、124、251 或 258 的抗体，其中所述抗体结合 CD79b 中 SEQ ID NO:2 氨基酸 29-39 或 SEQ ID NO:16 氨基酸 1-11 的区域内的表位。

[0217] 130. 项 1、6-10、58、69、80、91、115、118、121、124、251 或 258 的抗体，其中所述 CD79b 是在细胞表面上表达的。

[0218] 131. 项 130 的抗体，其中所述细胞是 B 细胞。

[0219] 132. 项 131 的抗体，其中所述 B 细胞是与 B 细胞增殖性病症有关的。

[0220] 133. 项 132 的抗体，其中所述 B 细胞增殖性病症是癌症。

[0221] 134. 项 133 的抗体，其中所述 B 细胞增殖性病症选自淋巴瘤、非何杰金氏淋巴瘤

(NHL)、攻击性NHL、复发性攻击性NHL、复发性无痛性NHL、顽固性NHL、顽固性无痛性NHL、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)、小淋巴细胞淋巴瘤、白血病、毛细胞白血病 (HCL)、急性淋巴细胞性白血病 (ALL) 和套细胞淋巴瘤。

[0222] 135. 项1、6-10、58、69、80、91、115、118、121、124、251或258的抗体，其中所述抗体是单克隆抗体。

[0223] 136. 项135的抗体，其中所述抗体是抗体片段，其选自Fab、Fab'-SH、Fv、scFv或$(Fab')_2$片段。

[0224] 137. 项135的抗体，其中所述抗体是人源化的。

[0225] 138. 项1、6-10、58、69、80、91、115、118、121、124、251或258的抗体，其中所述抗体与选自下组的抗体结合相同表位：1993年7月20日保藏于ATCC、编号HB11413的抗体；包含重链可变域SEQ ID NO:170和轻链可变域SEQ ID NO:169的抗体；包含重链可变域SEQ ID NO:189和轻链可变域SEQ ID NO:188的抗体；包含重链可变域SEQ ID NO:208和轻链可变域SEQ ID NO:207的抗体；和包含重链可变域SEQ ID NO:227和轻链可变域SEQ ID NO:226的抗体。

[0226] 139. 一种免疫偶联物，其包含共价附着至细胞毒剂的项1、6-10、58、69、80、91、115、118、121、124、251或258的抗体。

[0227] 140. 项139的免疫偶联物，其中所述细胞毒剂选自毒素、化疗剂、药物模块、抗生素、放射性同位素和溶核酶。

[0228] 141. 项140的免疫偶联物，其中所述免疫偶联物具有式Ab-(L-D)p，其中：

[0229] (a)Ab是项1、6-10、58、69、80、91、115、118、121、124、251或258的抗体；

[0230] (b)L是接头；

[0231] (c)D是药物模块。

[0232] 142. 项141的免疫偶联物，其中L选自6-马来酰亚氨基己酰基 (MC)、马来酰亚氨基丙酰基 (MP)、缬氨酸-瓜氨酸 (val-cit)、丙氨酸-苯丙氨酸 (ala-phe)、对氨基苄氧羰基 (PAB)、N-琥珀酰亚氨基4-(2-吡啶基硫代）戊酸酯 (SPP)、N-琥珀酰亚氨基4-(N-马来酰亚氨基甲基）环己烷-1-羧酸酯 (SMCC) 和N-琥珀酰亚氨基 (4-碘-乙酰基）氨基苯甲酸酯 (SIAB)。

[0233] 143. 项141的免疫偶联物，其中D选自auristatin和多拉司他汀。

[0234] 144. 一种药物组合物，其包含项141的免疫偶联物和药学可接受载体。

[0235] 145. 一种抑制表达CD79b的细胞生长的方法，所述方法包括使所述细胞接触项1、6-10、58、69、80、91、115、118、121、124、251或258任一项的抗体，由此引起对所述细胞生长的抑制。

[0236] 146. 项145的方法，其中所述抗体是偶联至细胞毒剂的。

[0237] 147. 项145的方法，其中所述抗体是偶联至生长抑制剂的。

[0238] 148. 一种治疗患有癌症的受试者的方法，所述方法包括给所述受试者施用有效量的项1、6-10、58、69、80、91、115、118、121、124、251或258任一项的抗体。

[0239] 149. 项148的方法，其中所述癌症选自淋巴瘤、非何杰金氏淋巴瘤 (NHL)、攻击性NHL、复发性攻击性NHL、复发性无痛性NHL、顽固性NHL、顽固性无痛性NHL、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)、小淋巴细胞淋巴瘤、白血病、毛细胞白血病 (HCL)、急性淋巴细胞性白血病

(ALL) 和套细胞淋巴瘤。

[0240] 150. 项 148 的方法，其中所述抗体是偶联至细胞毒剂的。

[0241] 151. 项 148 的方法，其中所述抗体是偶联至生长抑制剂的。

[0242] 152. 一种治疗受试者中增殖性病症的方法，所述方法包括给实施受试者施用有效量的项 1、6-10、58、69、80、91、115、118、121、124、251 或 258 任一项的抗体。

[0243] 153. 项 152 的方法，其中所述增殖性病症是癌症。

[0244] 154. 项 153 的方法，其中所述癌症选自淋巴瘤、非何杰金氏淋巴瘤 (NHL)、攻击性 NHL、复发性攻击性 NHL、复发性无痛性 NHL、顽固性 NHL、顽固性无痛性 NHL、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)、小淋巴细胞淋巴瘤、白血病、毛细胞白血病 (HCL)、急性淋巴细胞性白血病 (ALL) 和套细胞淋巴瘤。

[0245] 155. 项 152 的方法，其中所述抗体是偶联至细胞毒剂的。

[0246] 156. 项 152 的方法，其中所述抗体是偶联至生长抑制剂的。

[0247] 157. 抑制细胞生长的方法，其中所述细胞的生长至少部分依赖于 CD79b 的生长强化效应，所述方法包括使所述细胞接触有效量的项 1、6-10、58、69、80、91、115、118、121、124、251 或 258 任一项的抗体，由此抑制所述细胞的生长。

[0248] 158. 项 157 的方法，其中所述抗体是偶联至细胞毒剂的。

[0249] 159. 项 157 的方法，其中所述抗体是偶联至生长抑制剂的。

[0250] 160. 一种治疗性处理哺乳动物中肿瘤的方法，其中所述肿瘤的生长至少部分依赖于 CD79b 的生长强化效应，所述方法包括使所述细胞接触有效量的项 1、6-10、58、69、80、91、115、118、121、124、251 或 258 任一项的抗体。

[0251] 161. 项 160 的方法，其中所述肿瘤是与淋巴瘤、非何杰金氏淋巴瘤 (NHL)、攻击性 NHL、复发性攻击性 NHL、复发性无痛性 NHL、顽固性 NHL、顽固性无痛性 NHL、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)、小淋巴细胞淋巴瘤、白血病、毛细胞白血病 (HCL)、急性淋巴细胞性白血病 (ALL) 和套细胞淋巴瘤有关的。

[0252] 162. 项 160 的方法，其中所述抗体是偶联至细胞毒剂的。

[0253] 163. 项 160 的方法，其中所述抗体是偶联至生长抑制剂的。

[0254] 164. 一种抑制 B 细胞增殖的方法，包括在允许下述免疫偶联物结合至 CD79b 的条件下使细胞暴露于项 142 的免疫偶联物。

[0255] 165. 项 164 的方法，其中所述 B 细胞增殖选自淋巴瘤、非何杰金氏淋巴瘤 (NHL)、攻击性 NHL、复发性攻击性 NHL、复发性无痛性 NHL、顽固性 NHL、顽固性无痛性 NHL、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)、小淋巴细胞淋巴瘤、白血病、毛细胞白血病 (HCL)、急性淋巴细胞性白血病 (ALL) 和套细胞淋巴瘤。

[0256] 166. 项 164 的方法，其中所述 B 细胞是异种移植物。

[0257] 167. 项 164 的方法，其中所述暴露发生于体外。

[0258] 168. 项 164 的方法，其中所述暴露发生于体内。

[0259] 169. 一种测定怀疑含有 CD79b 的生物学样品中 CD79b 的存在情况的方法，所述方法包括使所述样品暴露于项 1、6-10、58、69、80、91、115、118、121、124、251 或 258 任一项的抗体，并测定所述抗体对所述样品中 CD79b 的结合，其中所述抗体结合至所述样品中的 CD79b 指示所述样品中存在所述蛋白质。

[0260] 170. 项 169 的方法，其中所述生物学样品来自怀疑患有 B 细胞增殖性病症的患者。

[0261] 171. 项 170 的方法，其中所述 B 细胞增殖性病症是选自淋巴瘤、非何杰金氏淋巴瘤 (NHL)、攻击性 NHL、复发性攻击性 NHL、复发性无痛性 NHL、顽固性 NHL、顽固性无痛性 NHL、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)、小淋巴细胞淋巴瘤、白血病、毛细胞白血病 (HCL)、急性淋巴细胞性白血病 (ALL) 和套细胞淋巴瘤。

[0262] 172. 一种使项 1、6-10、58、69、80、91、115、118、121、124、251 或 258 任一项的抗体结合至表达 CD79b 的细胞的方法，所述方法包括使所述细胞接触项 1、6-10、58、69、80、91、115、118、121、124、251 或 258 任一项的抗体。

[0263] 173. 项 172 的方法，其中所述抗体是偶联至细胞毒剂的。

[0264] 174. 项 172 的方法，其中所述抗体是偶联至生长抑制剂的。

[0265] 175. 一种半胱氨酸改造抗体，其包含一个或多个游离半胱氨酸氨基酸，其中所述半胱氨酸改造抗体是通过包括用游离半胱氨酸氨基酸替换亲本抗体的一个或多个氨基酸残基的方法制备的，其中所述亲本抗体是项 1、6-10、58、69、80、91、115、118、121、124、251 或 258 的抗体。

[0266] 176. 项 175 的半胱氨酸改造抗体，其中所述一个或多个游离半胱氨酸氨基酸具有 0.6-1.0 范围中的硫醇反应性值。

[0267] 177. 项 175 的半胱氨酸改造抗体，其中所述半胱氨酸改造抗体比亲本抗体更具与硫醇反应性试剂的反应性。

[0268] 178. 项 175 的半胱氨酸改造抗体，其中所述方法进一步包括通过使半胱氨酸改造抗体与硫醇反应性试剂起反应来测定所述半胱氨酸改造抗体的硫醇反应性；其中所述半胱氨酸改造抗体比亲本抗体更具与硫醇反应性试剂的反应性。

[0269] 179. 项 175 的半胱氨酸改造抗体，其中所述一个或多个游离半胱氨酸氨基酸残基位于轻链中。

[0270] 180. 项 175 的半胱氨酸改造抗体，其中所述抗体是包含共价附着至细胞毒剂的半胱氨酸改造抗体的免疫偶联物。

[0271] 181. 项 180 的半胱氨酸改造抗体，其中所述细胞毒剂选自毒素、化疗剂、药物模块、抗生素、放射性同位素和溶核酶。

[0272] 182. 项 175 的半胱氨酸改造抗体，其中所述抗体是共价附着至捕捉标记物、检测标记物或固体支持物的。

[0273] 183. 项 182 的半胱氨酸改造抗体，其中所述抗体是共价附着至生物素捕捉标记物的。

[0274] 184. 项 182 的半胱氨酸改造抗体，其中所述抗体是共价附着至荧光染料检测标记物的。

[0275] 185. 项 184 的半胱氨酸改造抗体，其中所述荧光染料选自荧光素型、罗丹明型、丹酰、丽丝胺、花青、藻红蛋白、德州红、及其类似物。

[0276] 186. 项 182 的半胱氨酸改造抗体，其中所述抗体是共价附着至放射性核素检测标记物的，该放射性核素选自 ^{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 和 ^{213}Bi。

[0277] 187. 项 182 的半胱氨酸改造抗体，其中所述抗体是通过螯合配体共价附着至检测

标记物的。

[0278] 188. 项 187 的半胱氨酸改造抗体，其中所述螯合配体是选自 DOTA、DOTP、DOTMA、DTPA 和 TETA。

[0279] 189. 项 1、6-10、58、69、80、91、115、118、121、124、251 或 258 的抗体，其包含清蛋白结合肽。

[0280] 190. 项 188 的抗体，其中所述清蛋白结合肽选自 SEQ ID NO:246-250。

[0281] 191. 一种半胱氨酸改造抗体，其在选自下组的一个或多个位置处包含一个或多个游离半胱氨酸氨基酸：亲本抗体中依照 Kabat 编号规则的轻链 15、110、114、121、127、168 和 205，及依照 Kabat 编号规则的重链 5、23、84、112 和依照 EU 编号规则的重链 118、120、282、375 和 400，其中所述亲本抗体是项 1、6-10、58、69、80、91、115、118、121、124、251 或 258 的抗体。

[0282] 192. 项 191 的抗体，其中半胱氨酸位于轻链第 205 位。

[0283] 193. 项 191 的抗体，其中半胱氨酸位于重链第 118 位。

[0284] 194. 项 191 的抗体，其中半胱氨酸是位于重链第 400 位。

[0285] 195. 项 191 的抗体，其中所述抗体选自单克隆抗体、双特异性抗体、嵌合抗体、人抗体和人源化抗体。

[0286] 196. 项 191 的抗体，其是抗体片段。

[0287] 197. 项 196 的抗体，其中所述抗体片段是 Fab 片段。

[0288] 198. 项 191 的抗体，其选自嵌合抗体、人抗体或人源化抗体。

[0289] 199. 项 191 的抗体，其是在细菌中生成的。

[0290] 200. 项 191 的抗体，其是在 CHO 细胞中生成的。

[0291] 201. 一种测定怀疑含有下述蛋白质的样品中 CD79b 蛋白质的存在情况的方法，所述方法包括使所述样品暴露于项 187 的抗体，并测定所述抗体对所述样品中所述 CD79b 蛋白质的结合，其中所述抗体结合至所述蛋白质指示所述样品中存在所述蛋白质。

[0292] 202. 项 201 的方法，其中所述样品包含怀疑表达所述 CD79b 蛋白质的细胞。

[0293] 203. 项 201 的方法，其中所述细胞是 B 细胞。

[0294] 204. 项 201 的方法，其中所述抗体是共价附着至标记物的，该标记物选自荧光染料、放射性同位素、生物素或金属络合配体。

[0295] 205. 一种药物配制剂，其包含项 191 的抗 CD79b 抗体和药学可接受稀释剂、载体或赋形剂。

[0296] 206. 项 191 的抗体，其中所述抗体是共价附着至 auristatin 或美登木素生物碱药物模块的，由此抗体药物偶联物形成。

[0297] 207. 项 206 的抗体 - 药物偶联物，其包含抗体 (Ab) 和 auristatin 或美登木素生物碱药物模块 (D)，其中所述半胱氨酸改造抗体是通过接头模块 (L) 经一个或多个游离半胱氨酸氨基酸附着至 D 的；该化合物具有式 I：

[0298] $Ab-(L-D)_p$ I

[0299] 其中 p 是 1、2、3 或 4。

[0300] 208. 项 207 的抗体 - 药物偶联物化合物，其中 p 是 2。

[0301] 209. 项 207 的抗体 - 药物偶联物化合物，其中 L 具有式：

[0302] $-A_a-W_w-Y_y-$

[0303] 其中：

[0304] A 是延伸物单元，其共价附着至半胱氨酸改造抗体 (Ab) 的半胱氨酸硫醇；

[0305] a 是 0 或 1；

[0306] 各个 W 独立地是氨基酸单元；

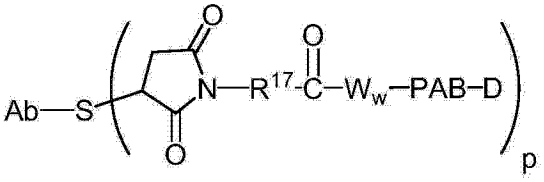
[0307] w 是范围为 0 至 12 的整数；

[0308] Y 是间隔物单元，其共价附着至药物模块；且

[0309] y 是 0、1 或 2。

[0310] 210. 项 209 的抗体 - 药物偶联物化合物，其具有式：

[0311]



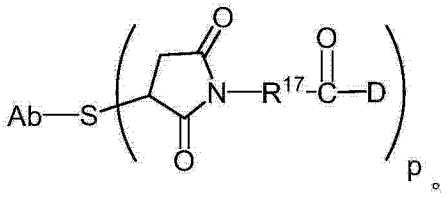
[0312] 其中 PAB 是对氨基苄基氨甲酰基，且 R^{17} 是选自 $(CH_2)_r$、C_3-C_8 碳环基、O-$(CH_2)_r$、亚芳基、$(CH_2)_r$- 亚芳基、- 亚芳基 -$(CH_2)_r$-、$(CH_2)_r$-(C_3-C_8 碳环基)、(C_3-C_8 碳环基)-$(CH_2)_r$、C_3-C_8 杂环基、$(CH_2)_r$-(C_3-C_8 杂环基)、-(C_3-C_8 杂环基)-$(CH_2)_r$-、-$(CH_2)_rC(O)NR^b(CH_2)_r$-、-$(CH_2CH_2O)_r$-、-$(CH_2CH_2O)_r$-CH_2-、-$(CH_2)_rC(O)NR^b(CH_2CH_2O)_r$-、-$(CH_2)_rC(O)NR^b(CH_2CH_2O)_r$-$CH_2$-、-$(CH_2CH_2O)_rC(O)NR^b(CH_2CH_2O)_r$-、-$(CH_2CH_2O)_rC(O)NR^b(CH_2CH_2O)_r$-$CH_2$- 和 -$(CH_2CH_2O)_rC(O)NR^b(CH_2)_r$- 的二价基；其中 R^b 是 H、C_1-C_6 烷基、苯基或苄基；且 r 独立地是范围为 1 至 10 的整数。

[0313] 211. 项 209 的抗体 - 药物偶联物化合物，其中 W_w 是缬氨酸 - 瓜氨酸。

[0314] 212. 项 209 的抗体 - 药物偶联物化合物，其中 R^{17} 是 $(CH_2)_5$ 或 $(CH_2)_2$。

[0315] 213. 项 209 的抗体 - 药物偶联物化合物，其具有式：

[0316]

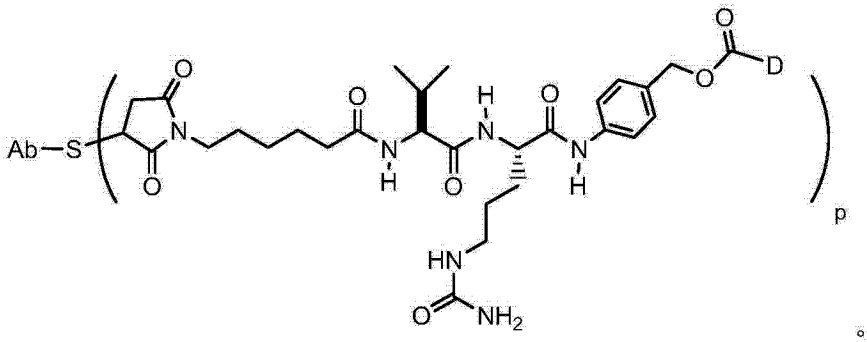


。

[0317] 214. 项 213 的抗体 - 药物偶联物化合物，其中 R^{17} 是 $(CH_2)_5$ 或 $(CH_2)_2$。

[0318] 215. 项 209 的抗体 - 药物偶联物化合物，其具有式：

[0319]

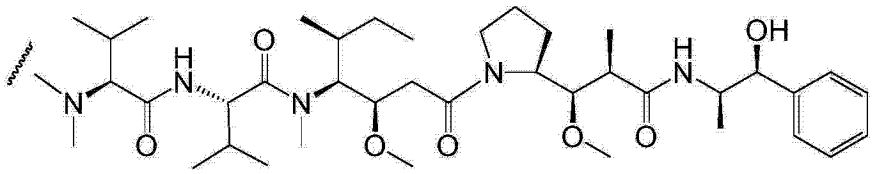


。

[0320] 216. 项 207 的抗体 - 药物偶联物化合物，其中 L 是 SMCC、SPP、SPDB 或 BMPEO。

[0321] 217. 项 207 的抗体 - 药物偶联物化合物，其中 D 是 MMAE，其具有结构：

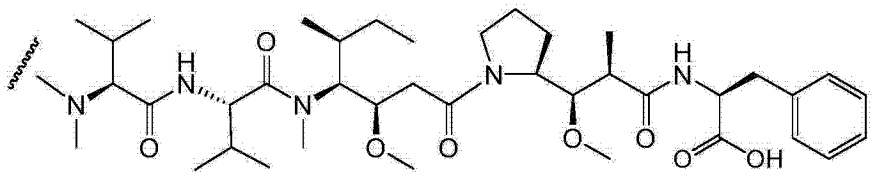
[0322]



[0323] 其中波浪线指出对接头 L 的附着位点。

[0324] 218. 项 207 的抗体 - 药物偶联物化合物，其中 D 是 MMAF，其具有结构：

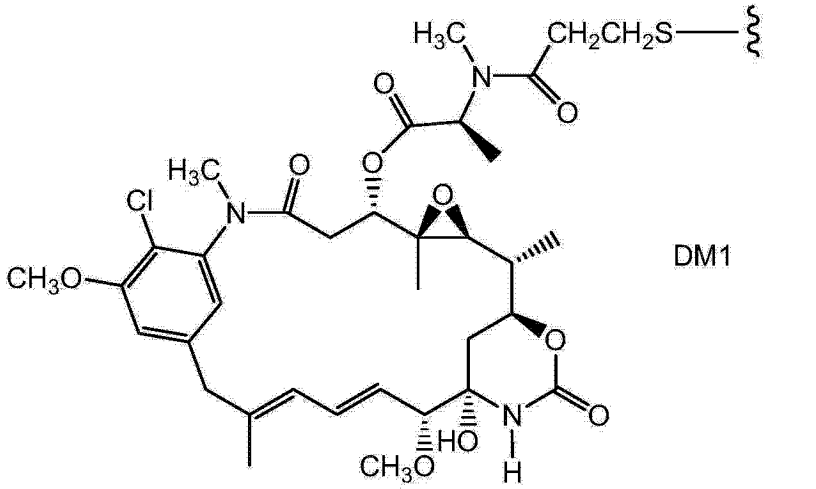
[0325]

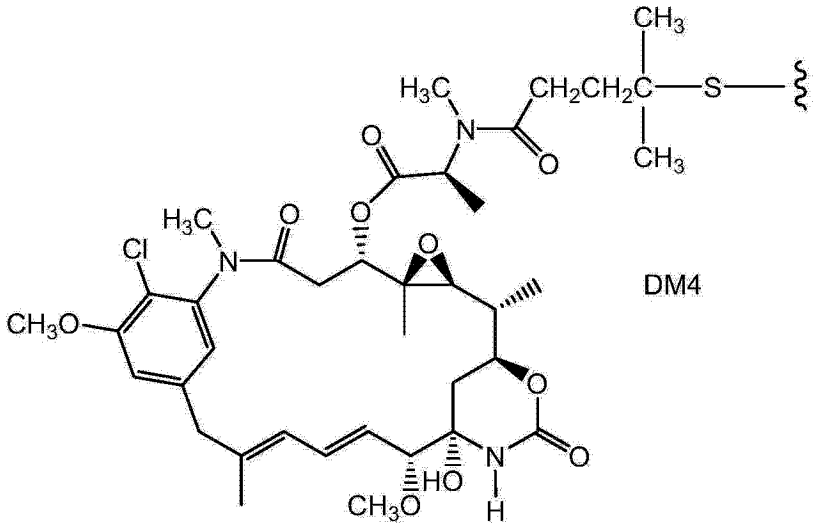


[0326] 其中波浪线指出对接头 L 的附着位点。

[0327] 219. 项 207 的抗体 - 药物偶联物化合物，其中 D 是 DM1 或 DM4，其具有结构：

[0328]





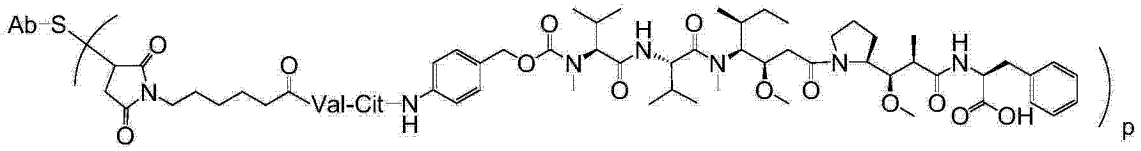
[0329] 其中波浪线指出对接头 L 的附着位点。

[0330] 220. 项 206 的抗体 - 药物偶联物化合物，其中所述抗体选自单克隆抗体、双特异性抗体、嵌合抗体、人抗体、人源化抗体和抗体片段。

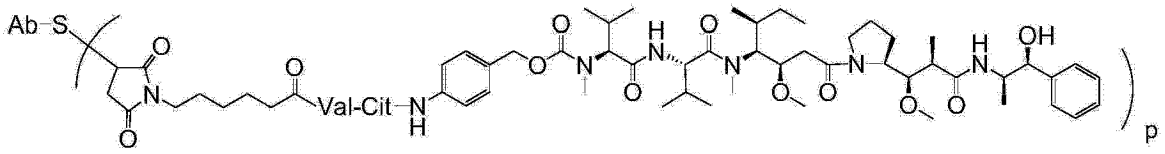
[0331] 221. 项 206 的抗体 - 药物偶联物化合物，其中所述抗体片段是 Fab 片段。

[0332] 222. 一种抗体 - 药物偶联物化合物，其选自结构：

[0333]

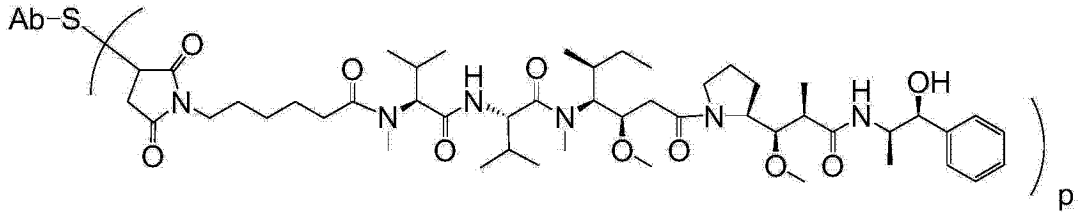


Ab-MC-vc-PAB-MMAF

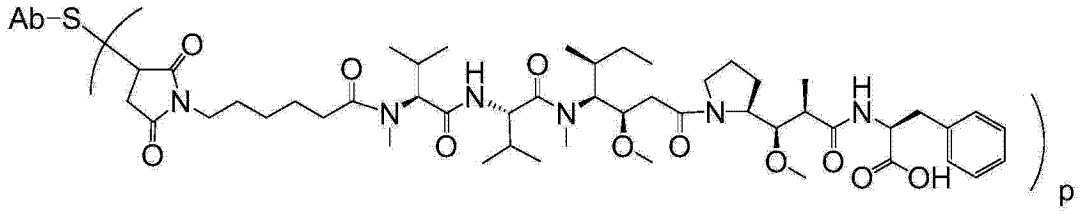


Ab-MC-vc-PAB-MMAE

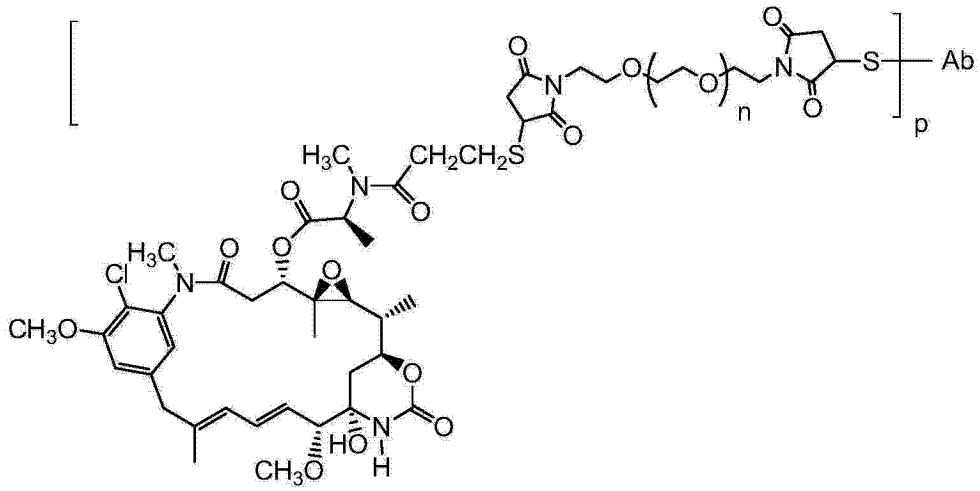
[0334]



Ab-MC-MMAE



Ab-MC-MMAF



Ab-BMPEO-DM1

[0335] 其中 Val 是缬氨酸 ;Cit 是瓜氨酸 ;p 是 1、2、3 或 4 ;且 Ab 是项 191 的抗体。

[0336] 223. 项 206 的抗体药物偶联物，其中所述 auristatin 是 MMAE 或 MMAF。

[0337] 224. 项 207 的抗体药物偶联物，其中 L 是 MC-val-cit-PAB 或 MC。

[0338] 225. 一种用于检测 B 细胞的测定法，包括 :

[0339] (a) 使细胞暴露于项 206 的抗体 - 药物偶联物化合物 ;并

[0340] (b) 测定所述抗体 - 药物偶联物化合物对所述细胞的结合程度。

[0341] 226. 一种抑制细胞增殖的方法，包括用项 206 的抗体 - 药物偶联物化合物处理细胞培养基中的哺乳动物癌性 B 细胞，由此所述癌性 B 细胞的增殖得到抑制。

[0342] 227. 一种药物配制剂，其包含项 206 的抗体 - 药物偶联物和药学可接受稀释剂、载体或赋形剂。

[0343] 228. 一种治疗癌症的方法，包括给患者施用项 227 的药物配制剂。

[0344] 229. 项 228 的方法，其中所述癌症选自下组 :淋巴瘤、非何杰金氏淋巴瘤 (NHL)、攻击性 NHL、复发性攻击性 NHL、复发性无痛性 NHL、顽固性 NHL、顽固性无痛性 NHL、慢性淋巴细

胞性白血病 (CLL)、小淋巴细胞淋巴瘤、白血病、毛细胞白血病 (HCL)、急性淋巴细胞性白血病 (ALL) 和套细胞淋巴瘤。

[0345] 230. 项 228 的方法，其中给所述患者施用与所述抗体 - 药物偶联物化合物组合的细胞毒剂。

[0346] 231. 一种制品，其包含 ：

[0347] 项 227 的药物配制剂 ；

[0348] 容器 ；和

[0349] 包装插页或标签，其指明该化合物可用于治疗以 CD79b 多肽过表达为特征的癌症。

[0350] 232. 项 231 的制品，其中所述癌症选自下组 ：淋巴瘤、非何杰金氏淋巴瘤 (NHL)、攻击性 NHL、复发性攻击性 NHL、复发性无痛性 NHL、顽固性 NHL、顽固性无痛性 NHL、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)、小淋巴细胞淋巴瘤、白血病、毛细胞白血病 (HCL)、急性淋巴细胞性白血病 (ALL) 和套细胞淋巴瘤。

[0351] 233. 一种用于制备抗体 - 药物偶联物化合物的方法，该抗体 - 药物偶联物化合物包含项 191 的抗 CD79b 抗体 (Ab)，和 auristatin 或美登木素生物碱药物模块 (D)，其中该抗体是通过接头模块 (L) 经一个或多个改造的半胱氨酸氨基酸附着至 D 的 ；该化合物具有式 I ：

[0352] $Ab-(L-D)_p$ I

[0353] 其中 p 是 1、2、3 或 4 ；该方法包括下列步骤 ：

[0354] (a) 使该抗体的改造的半胱氨酸基团与接头试剂起反应以形成抗体 - 接头中间体 Ab-L ；并

[0355] (b) 使 Ab-L 与活化的药物模块 D 起反应 ；由此抗体 - 药物偶联物形成 ；或包括下列步骤 ：

[0356] (c) 使药物模块的亲核基团与接头试剂起反应以形成药物 - 接头中间体 D-L ；并

[0357] (d) 使 D-L 与该抗体的改造的半胱氨酸基团起反应 ；由此抗体 - 药物偶联物形成。

[0358] 234. 项 233 的方法，进一步包括在中国仓鼠卵巢 (CHO) 细胞中表达所述抗体的步骤。

[0359] 235. 项 233 的方法，进一步包括用还原剂处理所表达的抗体的步骤。

[0360] 236. 项 235 的方法，其中所述还原剂选自 TCEP 和 DTT。

[0361] 237. 项 235 的方法，进一步包括在用还原剂处理后用氧化剂处理所表达的抗体的步骤。

[0362] 238. 项 237 的方法，其中所述氧化剂选自硫酸铜、脱氢抗坏血酸和空气。

[0363] 239. 项 191 的抗体，其中所述抗体包含与选自 SEQ ID NO:304 或 228 任一项的氨基酸序列具有至少 90％序列同一性的重链序列。

[0364] 240. 项 191 的抗体，其中所述抗体包含与氨基酸序列 SEQ ID NO:303 具有至少 90％序列同一性的轻链序列和与氨基酸序列 SEQ ID NO:228 具有至少 90％序列同一性的重链序列。

[0365] 241. 项 191 的抗体，其中所述抗体包含与选自 SEQ ID NO:306 或 230 任一项的氨基酸序列具有至少 90％序列同一性的重链序列。

[0366] 242. 项 191 的抗体，其中所述抗体包含与氨基酸序列 SEQ ID NO:305 具有至少 90％序列同一性的轻链序列和与氨基酸序列 SEQ ID NO:230 具有至少 90％序列同一性的重链序列。

[0367] 243. 项 191 的抗体，其中所述抗体包含与选自 SEQ ID NO:308 或 232 任一项的氨基酸序列具有至少 90％序列同一性的重链序列。

[0368] 244. 项 191 的抗体，其中所述抗体包含与氨基酸序列 SEQ ID NO:307 具有至少 90％序列同一性的轻链序列和与氨基酸序列 SEQ ID NO:232 具有至少 90％序列同一性的重链序列。

[0369] 245. 项 191 的抗体，其中所述抗体包含与选自 SEQ ID NO:6 或 236 任一项的氨基酸序列具有至少 90％序列同一性的重链序列。

[0370] 246. 项 191 的抗体，其中所述抗体包含与选自 SEQ ID NO:4 或 235 任一项的氨基酸序列具有至少 90％序列同一性的轻链序列。

[0371] 247. 项 191 的抗体，其中所述抗体包含与氨基酸序列 SEQ ID NO:4 具有至少 90％序列同一性的轻链序列和与氨基酸序列 SEQ ID NO:236 具有至少 90％序列同一性的重链序列。

[0372] 248. 项 191 的抗体，其中所述抗体包含与氨基酸序列 SEQ ID NO:235 具有至少 90％序列同一性的轻链序列和与氨基酸序列 SEQ ID NO:6 具有至少 90％序列同一性的重链序列。

[0373] 249. 一种与 CD79b 结合的抗体，其中所述抗体包含与选自 SEQ ID NO:301 的氨基酸序列具有至少 90％序列同一性的重链可变域。

[0374] 250. 一种与 CD79b 结合的抗体，其中所述抗体包含与选自 SEQ ID NO:302 的氨基酸序列具有至少 90％序列同一性的轻链可变域。

[0375] 251. 一种与 CD79b 结合的抗体，其中所述抗体包含与选自 SEQ ID NO:301 的氨基酸序列具有至少 90％序列同一性的重链可变域和与选自 SEQ ID NO:302 的氨基酸序列具有至少 90％序列同一性的轻链可变域。

[0376] 252. 项 191 的抗体，其中所述抗体包含与选自 SEQ ID NO:243 或 244 任一项的氨基酸序列具有至少 90％序列同一性的重链序列。

[0377] 253. 项 191 的抗体，其中所述抗体包含与选自 SEQ ID NO:241 或 300 任一项的氨基酸序列具有至少 90％序列同一性的轻链序列。

[0378] 254. 项 191 的抗体，其中所述抗体包含与氨基酸序列 SEQ ID NO:241 具有至少 90％序列同一性的轻链序列和与氨基酸序列 SEQ ID NO:244 具有至少 90％序列同一性的重链序列。

[0379] 255. 项 191 的抗体，其中所述抗体包含与氨基酸序列 SEQ ID NO:300 具有至少 90％序列同一性的轻链序列和与氨基酸序列 SEQ ID NO:243 具有至少 90％序列同一性的重链序列。

[0380] 256. 一种组合物，其包含项 1、6-10、58、69、80、91、115、118、121、124、251 或 258 任一项的抗体。

[0381] 257. 项 256 的组合物，其中所述组合物包含载体。

[0382] 258. 一种与 CD79b 结合的抗体，其中所述抗体包含与选自 SEQ ID NO:14 的氨基酸

序列具有至少 90％序列同一性的重链可变域和与选自 SEQ ID NO:10 的氨基酸序列具有至少 90％序列同一性的轻链可变域。

[0383] 附图简述

[0384] 图 1 显示了 PRO36249cDNA 的核苷酸序列 (SEQ ID NO:1)，其中 SEQ ID NO:1 是本文中称作“DNA225786”（在本文中也称作“CD79b”）的克隆。该核苷酸序列编码 CD79b，其中起始和终止密码子以粗体显示且标有下划线。

[0385] 图 2 显示了自图 1 所示编码序列 SEQ ID NO:1 推导出的氨基酸序列 (SEQ ID NO:2)。

[0386] 图 3 显示了嵌合 CD79b 鼠抗体 (chMA79b)IgG1 的轻链的核苷酸序列 (SEQ ID NO:3)(MA79b 是鼠单克隆抗 CD79b 抗体）。该核苷酸序列编码 chMA79b 的轻链，其中起始和终止密码子以粗体显示且标有下划线。

[0387] 图 4 显示了自图 3 所示编码序列 SEQ ID NO:3 推导出的氨基酸序列 (SEQ ID NO:4)，缺失前 18 个氨基酸的信号序列。可变区是未标有下划线的区域。

[0388] 图 5 显示了嵌合鼠抗体 (chMA79b)IgG1 的重链的核苷酸序列 (SEQ ID NO:5)(MA79b 是鼠单克隆抗 CD79b 抗体）。该核苷酸序列编码 chMA79b 的重链，其中起始和终止密码子以粗体显示且标有下划线。

[0389] 图 6 显示了自图 5 所示编码序列 SEQ ID NO:5 推导出的氨基酸序列 (SEQ ID NO:6)，缺失前 18 个氨基酸的信号序列和终止密码子前最后的赖氨酸 (K)。可变区是未标有下划线的区域。

[0390] 图 7A-7B 显示了下列各项的可变轻链序列比对：具有 VL-FR1、VL-FR2、VL-FR3、VL-FR4（分别为 SEQ ID NO:139-142）的轻链人 κ I 共有序列（标示为“huKI”;SEQ ID NO:9)、鼠抗 CD79b 抗体（标示为“MA79b”;SEQ ID NO:10)、MA79b 嫁接的“人源化”抗体（标示为“huMA79b 嫁接物”;SEQ ID NO:11)、MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体 17（标示为“huMA79b.v17”;SEQ ID NO:169)、MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体 18（标示为“huMA79b.v18”;SEQ IDNO:188)、MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体 28（标示为“huMA79b.v28”;SEQ ID NO:207) 和 MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体 32（标示为“huMA79b.v32”;SEQ ID NO:226)。位置是依照 Kabat 编号的，而且框示了自 MA79b 嫁接至可变轻链 κ I 共有框架的高变区 (HVR)。

[0391] 图 8A-8B 显示了下列各项的可变重链序列比对：具有 VH-FR1、VH-FR2、VH-FR3 和 VH-FR4(SEQ ID NO:143-146) 的重链人亚组 III 共有序列（标示为“humIII”;SEQ ID NO:13)、鼠抗 CD79b 抗体（标示为“MA79b”;SEQ ID NO:14)、MA79b 嫁接的“人源化”抗体（标示为“huMA79b 嫁接物”;SEQ ID NO:15)（含有 71A、73T 和 78A)、MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体 17（标示为“huMA79b.v17”;SEQ ID NO:170)（含有 71A、73T 和 78A)、MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体 18（标示为“huMA79b.v18”;SEQ ID NO:189)（含有 71A、73T 和 78A)、MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体 28（标示为“huMA79b.v28”;SEQ ID NO:208)（含有 71A、73T 和 78A) 和 MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体 32（标示为“huMA79b.v32”;SEQ ID NO:227)（含有 71A、73T 和 78A)。位置是依照 Kabat 编号的，而且框示了自 MA79b 嫁接至可变重链亚组 III 共有框架的高变区 (HVR)。

[0392] 图 9 显示了选定的 MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体的各种 HVR 序列 (SEQ ID

NO:17-21)，其中每种变体具有 MA79b 嫁接的“人源化”抗体的单个 HVR 区中的单个氨基酸变化 (HVR-L1(SEQ ID NO:131) ;HVR-L2(SEQ ID NO:132) ;HVR-L3(SEQ ID NO:133))。所示单个氨基酸变化以外的可变轻链和重链序列与 huMA79b 嫁接物相同，没有显示。在 MA79b 嫁接的“人源化”抗体的 HVR-H1(SEQ ID NO:134)、HVR-H2(SEQ ID NO:135) 或 HVR-H3(SEQ ID NO:136) 中没有观察到变化。

[0393] 图 10 显示了选定的 MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体 (包括 huMA79b L2-2(在本文中也称作“L2”) 和 huMA79b H3-10(在本文中也称作“H3”)) 的各种 HVR 序列 (SEQ ID NO:22-106)，其中每种变体具有 MA79b 嫁接的“人源化”抗体的单个 HVR 区中的多个氨基酸变化 (HVR-L2(SEQ ID NO:132) ;HVR-L3(SEQ ID NO:133) ;HVR-H1(SEQ ID NO:134) ;部分 HVR-H3(SEQ ID NO:136) 在图 10 中显示为 SEQ ID NO:107)。所示氨基酸变化以外的可变轻链和重链序列与 huMA79b 嫁接物相同，没有显示。在 MA79b 嫁接的“人源化”抗体的 HVR-L1(SEQ ID NO:131) 或 HVR-H2(SEQ ID NO:135) 中没有观察到变化。

[0394] 图 11 显示了选定的抗 CD79b 抗体对指定的抗原的 Biacore 分析，选定的抗 CD79b 抗体包括鼠 CD79b 抗体 (标示为“MA79b”)、MA79b 嫁接的“人源化”抗体 (标示为“huMA79b 嫁接物”) 和 MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体，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) 和 huMA79b L2/H3(下文所示 L2-2 和 H3-10 突变)，指定的抗原包括人 CD79b 的胞外结构域 ($huCD79b_{ecd}$)、与 Fc 融合的人 CD79b 胞外结构域 ($huCD79b_{ecd}$-Fc) 和 16 个氨基酸的含有 MA79b 和 chMA79b 表位的肽 (SEQ ID NO:16)。

[0395] 图 12 显示了选定的抗 CD79b 抗体对人 CD79b 胞外结构域 ($huCD79b-_{ecd}$ 抗原) 的 Biacore 分析，所述选定的抗 CD79b 抗体包括 MA79b 嫁接的“人源化”抗体 (标示为“huMA79b 嫁接物”) 和 MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体 (在第 1 列中标示为 1-34 或在第 1 列中标示为“整个框架”)。MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体包括其中存在可能重要的鼠框架残基的“整个框架”变体及具有框架突变组合且有或无所示可变轻链和可变重链中 HVR 突变的变体 (标示为 1-34)。MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体 17(在本文中称作“huMA79b.v17”) 在第 1 列中标示为 17，MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体 18(在本文中称作“huMA79b.v18”) 在第 1 列中标示为 18，MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体 28(在本文中称作“huMA79b.v28”) 在第 1 列中标示为 28，而 MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体 32(在本文中称作“huMA79b.v32”) 在第 1 列中标示为 32。二价结合倍数表述成特定 MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体的 Kd(标示为“$Kd_{变体}$”)/ 嵌合 MA79b 抗体 (chMA79b) 的 Kd(标示为“$Kd_{嵌合}$”) ;标示“二价结合倍数”列下的值代表 $Kd_{变体}/Kd_{嵌合}$。没有检测到结合在图中标示为“NDB”。

[0396] 图 13A-13B(可变重链 (VH) 共有框架) 和图 14(可变轻链 (VL) 共有框架) 描绘了用于实践本发明的例示性受体人共有框架序列，序列标识符如下 :(图 13A-13B) 人 VH 亚组 I 共有框架减去 Kabat CDR(SEQ ID NO:108)、人 VH 亚组 I 共有框架减去延伸的高变区 (SEQ ID NO:109-111)、人 VH 亚组 II 共有框架减去 Kabat CDR(SEQ ID NO:112)、人 VH 亚组 II 共有框架减去延伸的高变区 (SEQ ID NO:113-115)、人 VH 亚组 III 共有框架减去 Kabat CDR(SEQ ID NO:116)、人 VH 亚组 III 共有框架减去延伸的高变区 (SEQ ID NO:117-119)、人 VH 受体框架减去 Kabat CDR(SEQ ID NO:120)、人 VH 受体框架减去延伸的高变区 (SEQ ID NO:121-122)、人 VH 受体 2 框架减去 Kabat CDR(SEQ ID NO:123) 和人 VH 受体 2 框架减去

延伸的高变区 (SEQ ID NO:124-26) 及 (图 14) 人 VLκ 亚组 I 共有框架 (SEQ ID NO:127)、人 VLκ 亚组 II 共有框架 (SEQ ID NO:128)、人 κ 亚组 III 共有框架 (SEQ ID NO:129) 和人 κ 亚组 IV 共有框架 (SEQ ID NO:130)。

[0397] 图 15 的 A 部分 (轻链) 和 B 部分 (重链) 显示了本发明抗体 (huMA79b.v17) 的氨基酸序列。图 15 的 A 部分 (轻链) 和 B 部分 (重链) 显示了本发明抗体的一个实施方案 (huMA79b.v17) 的框架 (FR)、高变区 (HVR)、第一恒定域 (CL 或 CH1) 和 Fc 区 (Fc) 的氨基酸序列 (SEQ ID NO:152-159(图 15 的 A 部分) 和 SEQ ID NO:160-168(图 15 的 B 部分))。显示了 huMA79b.v17 的轻链和重链的全长氨基酸序列 (可变区和恒定区) (分别为 SEQ ID NO:303(图 15 的 A 部分) 和 304(图 15 的 B 部分),恒定域标有下划线)。显示了可变域的氨基酸序列 (SEQ ID NO:169(图 15 的 A 部分为轻链) 和 SEQ ID NO:170(图 15 的 B 部分为重链))。

[0398] 图 16 的 A 部分 (轻链) 和 B 部分 (重链) 显示了本发明抗体 (huMA79b.v18) 的氨基酸序列。图 16 的 A 部分 (轻链) 和 B 部分 (重链) 显示了本发明抗体的一个实施方案 (huMA79b.v18) 的框架 (FR)、高变区 (HVR)、第一恒定域 (CL 或 CH1) 和 Fc 区 (Fc) 的氨基酸序列 (SEQ ID NO:171-178(图 16 的 A 部分) 和 SEQ ID NO:179-187(图 16 的 B 部分))。显示了 huMA79b.v18 的轻链和重链的全长氨基酸序列 (可变区和恒定区) (分别为 SEQ ID NO:305(图 16 的 A 部分) 和 306(图 16 的 B 部分),恒定域标有下划线)。显示了可变域的氨基酸序列 (SEQ ID NO:188(图 16 的 A 部分为轻链) 和 SEQ ID NO:189(图 16 的 B 部分为重链))。

[0399] 图 17 的 A 部分 (轻链) 和 B 部分 (重链) 显示了本发明抗体 (huMA79b.v28) 的氨基酸序列。图 17 的 A 部分 (轻链) 和 B 部分 (重链) 显示了本发明抗体的一个实施方案 (huMA79b.v28) 的框架 (FR)、高变区 (HVR)、第一恒定域 (CL 或 CH1) 和 Fc 区 (Fc) 的氨基酸序列 (SEQ ID NO:190-197(图 17 的 A 部分) 和 SEQ ID NO:198-206(图 17 的 B 部分))。显示了 huMA79b.v28 的轻链和重链的全长氨基酸序列 (可变区和恒定区) (分别为 SEQ ID NO:307(图 17 的 A 部分) 和 308(图 17 的 B 部分),恒定域标有下划线)。显示了可变域的氨基酸序列 (SEQ ID NO:207(图 7A-7B 为轻链) 和 SEQ ID NO:208(图 8A-8B 为重链))。

[0400] 图 18 的 A 部分 (轻链) 和 B 部分 (重链) 显示了本发明抗体 (huMA79b.v32) 的氨基酸序列。图 18 的 A 部分 (轻链) 和 B 部分 (重链) 显示了本发明抗体的一个实施方案 (huMA79b.v32) 的框架 (FR)、高变区 (HVR)、第一恒定域 (CL 或 CH1) 和 Fc 区 (Fc) 的氨基酸序列 (SEQ ID NO:209-216(图 18 的 A 部分) 和 SEQ ID NO:217-225(图 18 的 B 部分))。显示了 huMA79b.v32 的轻链和重链的全长氨基酸序列 (可变区和恒定区) (分别为 SEQ ID NO:309(图 18 的 A 部分) 和 310(图 18 的 B 部分),恒定域标有下划线)。显示了可变域的氨基酸序列 (SEQ ID NO:226(图 18 的 A 部分为轻链) 和 SEQ ID NO:227(图 18 的 B 部分为重链))。

[0401] 图 19 显示了来自人 (SEQ ID NO:2)、猕猴 (cyno)(SEQ ID NO:7) 和小鼠 (SEQ ID NO:8) 的 CD79b 的氨基酸序列比对。人和猕猴 CD79b 具有 85％氨基酸同一性。标示了信号序列、测试肽 (实施例 1 所述 MA79b、chMA79b 和抗 cyno CD79b 抗体的 11 个氨基酸的表位 ; ARSEDRYRNPK(SEQ ID NO:12))、跨膜 (TM) 结构域和免疫受体基于酪氨酸的活化基序 (ITAM) 结构域。框示的区域是 CD79b 的剪接变体中不存在的 CD79b 区域 (实施例 1 中有描述)。

[0402] 图 20 是 BJAB- 萤光素酶异种移植物模型中体内肿瘤生长抑制的图，显示了给具有人 B 细胞肿瘤的 SCID 小鼠施用抗 CD79b 抗体 ((a)chMA79b-SMCC-DM1，药物载荷是大约 2.9（表 9）和 (b)huMA79b L2/H3-SMCC-DM1，药物载荷是大约 2.4（表 9）显著抑制肿瘤生长。对照包括Herceptin® (trastuzumab)-SMCC-DM1（抗 HER2-SMCC-DM1）。

[0403] 图 21A 是 Granta-519（人套细胞淋巴瘤）异种移植物模型中体内肿瘤生长抑制的图，显示了给具有人 B 细胞肿瘤的 SCID 小鼠施用抗 CD79b 抗体 ((a)chMA79b-SMCC-DM1，药物载荷是大约 3.6（表 10）、(b)huMA79b.v17-SMCC-DM1，药物载荷是大约 3.4（表 10）、(c)huMA79b.v28-SMCC-DM1，药物载荷是大约 3.3 或 3.4（表 10）、(d)huMA79b.v18-SMCC-DM1，药物载荷是大约 3.4（表 10）和 (e)huMA79b.v32-SMCC-DM1，药物载荷是大约 2.9（表 10)) 显著抑制肿瘤生长。对照包括Herceptin® (trastuzumab)-SMCC-DM1（抗 HER2-SMCC-DM1）。图 21B 是来自 Granta-519 异种移植物研究（图 21A 和表 10）的小鼠中百分比体重变化的图，显示了研究的前 7 天期间体重没有显著变化。“hu”指人源化抗体，而“ch”指嵌合抗体。

[0404] 图 22 显示了半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体药物偶联物 (ADC) 的示意图，其中药物模块附着至轻链 (LC-ADC)、重链 (HC-ADC) 和 Fc 区 (Fc-ADC) 中的改造半胱氨酸基团。

[0405] 图 23 显示了下列步骤：(i) 还原半胱氨酸二硫化物加合物及半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体 (ThioMab) 中的链间和链内二硫化物用还原剂 TCEP（盐酸三 (2- 羧乙基）膦）；(ii) 用 dhAA（脱氢抗坏血酸）部分氧化（即重新氧化）以重新形成链间和链内二硫化物；并 (iii) 将重新氧化的抗体与药物 - 接头中间体偶联以形成半胱氨酸抗 CD79b 药物偶联物 (ADC)。

[0406] 图 24 显示了人源化半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体 (thio-huMA79b.v17-HC-A118C) 的 (A) 轻链序列 (SEQ ID NO:229) 和 (B) 重链序列 (SEQ ID NO:228)，其中重链 EU 第 118 位（连续编号第 118 位丙氨酸；Kabat 第 114 位）处的丙氨酸被改变成半胱氨酸。药物模块可附着至重链中改造的半胱氨酸基团。在每幅图中，改变的氨基酸以粗体显示且标有双下划线。单下划线标示恒定区。可变区是未标有下划线的区域。Fc 区以斜体标示。“Thio”指半胱氨酸改造抗体，而“hu”指人源化抗体。

[0407] 图 25 显示了人源化半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体 (thio-huMA79b.v18-HC-A118C) 的 (A) 轻链序列 (SEQ ID NO:231) 和 (B) 重链序列 (SEQ ID NO:230)，其中重链 EU 第 118 位（连续编号第 118 位丙氨酸；Kabat 第 114 位）处的丙氨酸被改变成半胱氨酸。药物模块可附着至重链中改造的半胱氨酸基团。在每幅图中，改变的氨基酸以粗体显示且标有双下划线。单下划线标示恒定区。可变区是未标有下划线的区域。Fc 区以斜体标示。“Thio”指半胱氨酸改造抗体，而“hu”指人源化抗体。

[0408] 图 26 显示了人源化半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体 (thio-huMA79b.v28-HC-A118C) 的 (A) 轻链序列 (SEQ ID NO:233) 和 (B) 重链序列 (SEQ ID NO:232)，其中重链 EU 第 118 位（连续编号第 118 位丙氨酸；Kabat 第 114 位）处的丙氨酸被改变成半胱氨酸。药物模块可附着至重链中改造的半胱氨酸基团。在每幅图中，改变的氨基酸以粗体显示且标有双下划线。单下划线标示恒定区。可变区是未标有下划线的区域。Fc 区以斜体标示。“Thio”指半胱氨酸改造抗体，而“hu”指人源化抗体。

[0409] 图 27 显示了半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体 (thio-MA79b-LC-V205C) 的 (A) 轻链序列 (SEQ ID NO:235) 和 (B) 重链序列 (SEQ ID NO:234)，其中轻链 Kabat 第 205 位（连续编

号第 209 位缬氨酸）缬氨酸被改变成半胱氨酸。药物模块可附着至轻链中改造的半胱氨酸基团。在每幅图中，改变的氨基酸以粗体显示且标有双下划线。单下划线标示恒定区。可变区是未标有下划线的区域。Fc 区以斜体标示。“Thio”指半胱氨酸改造抗体。

[0410] 图 28 显示了半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体 (thio-MA79b-HC-A118C) 的 (A) 轻链序列 (SEQ ID NO:237) 和 (B) 重链序列 (SEQ ID NO:236)，其中重链 EU 第 118 位（连续编号第 118 位丙氨酸；Kabat 第 114 位）处的丙氨酸被改变成半胱氨酸。药物模块可附着至重链中改造的半胱氨酸基团。在每幅图中，改变的氨基酸以粗体显示且标有双下划线。单下划线标示恒定区。可变区是未标有下划线的区域。Fc 区以斜体标示。“Thio”指半胱氨酸改造抗体。

[0411] 图 29A-29B 是 FACS 图，指明对于与 MMAF 偶联的 chMA79b 的 (A)LC(V205C)thioMAb 变体和 (B)HC(A118C)thioMAb 变体，本发明的抗 CD79b thioMAb 药物偶联物 (TDC) 对 BJAB- 萤光素酶细胞表面上表达的 CD79b 的结合是类似的。检测使用 MS 抗人 IgG-PE 进行。“Thio”指半胱氨酸改造抗体。

[0412] 图 30A-30D 是 FACS 图，指明对于 (A) 裸的（未偶联的）huMA79b.v18 的 HC(A118C)thioMAb 变体及与所示不同药物偶联物 ((B)MMAF、(C)MMAE 和 (D)DM1)) 偶联的 huMA79b.v18 的 HC(A118C)thioMAb 变体，本发明的抗 CD79b thioMAb 药物偶联物 (TDC) 对 BJAB- 萤光素酶细胞表面上表达的 CD79b 的结合是类似的。检测使用 MS 抗人 IgG-PE 进行。“Thio”指半胱氨酸改造抗体，而“hu”指人源化抗体。

[0413] 图 31A-31D 是 FACS 图，指明对于 (A) 裸的（未偶联的）的 huMA79b.v28 的 HC(A118C)thioMAb 变体及与所示不同药物偶联物 ((B)MMAE、(C)DM1 和 (D)MMAF)) 偶联的 huMA79b.v28 的 HC(A118C)thioMAb 变体，本发明的抗 CD79b thioMAb 药物偶联物 (TDC) 对 BJAB- 萤光素酶细胞表面上表达的 CD79b 的结合是类似的。检测使用 MS 抗人 IgG-PE 进行。“Thio”指半胱氨酸改造抗体，而“hu”指人源化抗体。

[0414] 图 32A-32D 是 FACS 图，指明对于 (A) 裸的（未偶联的）的抗 cynoCD79b(ch10D10) 的 HC(A118C)thioMAb 变体及与所示不同药物偶联物 ((B)MMAE、(C)DM1 和 (D)MMAF)) 偶联的抗 cynoCD79b(ch10D10) 的 HC(A118C)thioMAb 变体而言，本发明的抗猕猴 CD79b thioMAb 药物偶联物 (TDC) 对表达 cynoCD79b 的 BJAB 细胞表面上表达的 CD79b 的结合是类似的。检测使用 MS 抗人 IgG-PE 进行。“Thio”指半胱氨酸改造抗体。

[0415] 图 33A 是 Granta-519（人套细胞淋巴瘤）异种移植物模型中体内肿瘤生长抑制的图，显示了给具有人 B 细胞肿瘤的 SCID 小鼠施用改造半胱氨酸的位置 (LC(V205C) 或 HC(A118C)) 不同和 / 或药物载荷不同的抗 CD79b TDC 显著抑制肿瘤生长。用药物载荷大约 1.9 的 thio chMA79b-HC(A118C)-MC-MMAF（表 11）或药物载荷大约 1.8 的 thio chMA79b-LC(V205C)-MC-MMAF（表 11）处理的异种移植物模型在研究期间显示出显著抑制肿瘤生长。对照包括 hu-anti-HER2-MC-MMAF 和 thio hu-anti-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF 和 chMA79b-MC-MMAF。图 33B 是来自 Granta-519 异种移植物研究（图 33A 和表 11）的小鼠中百分比体重变化的图，显示了研究的前 14 天期间体重没有显著变化。“Thio”指半胱氨酸改造抗体，而“hu”指人源化抗体。

[0416] 图 34A 是 BJAB- 萤光素酶（伯基特氏淋巴瘤 (Burkitt’s lymphoma)）异种移植物模型中体内肿瘤生长抑制的图，显示了给具有人 B 细胞肿瘤的 SCID 小鼠施用偶联至不

同接头药物模块 (MCvcPAB-MMAE、BMPEO-DM1 或 MC-MMAF) 的抗 CD79b TDC 显著抑制肿瘤生长。用药物载荷大约 1.87 的 thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE(表 12)、药物载荷大约 1.85 的 thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1(表 12) 或药物载荷大约 1.95 的 thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF(表 12) 处理的异种移植物模型在研究期间显示出显著抑制肿瘤生长。对照包括抗 HER2 对照 (thio hu-anti-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio hu-anti-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF、thio hu-anti-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE)、huMA79b.v28 对照 (huMA79b.v28-SMCC-DM1 和 thio huMA79b.v28-HC(A118C)) 和抗 CD22 对照 (thio hu-anti-CD22(10F4v3)-HC(A118C)-MC-MMAF)。图 34B 是来自 BJAB- 萤光素酶异种移植物研究 (图 34A 和表 12) 的小鼠中百分比体重变化的图，显示了研究的前 7 天期间体重没有显著变化。“Thio”指半胱氨酸改造抗体，而“hu”指人源化抗体。

[0417] 图 35A 是 WSU-DLCL2(弥漫性大细胞淋巴瘤) 异种移植物模型中体内肿瘤生长抑制的图，显示了给具有人 B 细胞肿瘤的 SCID 小鼠施用偶联至不同接头药物模块 (MCvcPAB-MMAE、BMPEO-DM1 或 MC-MMAF) 的抗 CD79b TDC 显著抑制肿瘤生长。用药物载荷大约 1.87 的 thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE(表 13)、药物载荷大约 1.85 的 thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1(表 13) 或药物载荷大约 1.95 的 thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF(表 13) 处理的异种移植物模型在研究期间显示出显著抑制肿瘤生长。对照包括抗 HER2 对照 (thio hu-anti-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio hu-anti-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF、thio hu-anti-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE)、huMA79b.v28 对照 (huMA79b.v28-SMCC-DM1 和 thio huMA79b.v28-HC(A118C)) 和抗 CD22 对照 (thio hu-anti-CD22(10F4v3)-HC(A118C)-MC-MMAF)。图 35B 是来自 WSU-DLCL2 异种移植物研究 (图 35A 和表 13) 的小鼠中百分比体重变化的图，显示了研究的前 7 天期间体重没有显著变化。“Thio”指半胱氨酸改造抗体，而“hu”指人源化抗体。

[0418] 图 36 是 DOHH2(滤泡性淋巴瘤) 异种移植物模型中体内肿瘤生长抑制的图，显示了给具有人 B 细胞肿瘤的 SCID 小鼠施用偶联至不同接头药物模块 (BMPEO-DM1、MC-MMAF 或 MCvcPAB-MMAE) 的抗 CD79b TDC 显著抑制肿瘤生长。用 thio huMA79b.v28-BMPEO-DM1(药物载荷大约 1.85(表 14))、thio huMA79b.v28-MC-MMAF(药物载荷大约 1.95(表 14)) 或 thio MA79b-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE(药物载荷大约 1.87(表 14)) 处理的异种移植物模型在研究期间显示出显著抑制肿瘤生长。对照包括抗 HER2 对照 (thio hu- 抗 HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio hu-anti-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF、thio hu-anti-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE)、huMA79b.v28 对照 (huMA79b.v28-SMCC-DM1 和 thio huMA79b.v28-HC(A118C)) 和抗 CD22 对照 (thio hu-anti-CD22(10F4v3)-HC(A118C)-MC-MMAF)。“Thio”指半胱氨酸改造抗体，而“hu”指人源化抗体。

[0419] 图 37 是 BJAB- 萤光素酶 (伯基特氏淋巴瘤 (Burkitt’s lymphoma)) 异种移植物模型中体内肿瘤生长抑制的图，显示了给具有人 B 细胞肿瘤的 SCID 小鼠施用偶联至不同接头药物模块 (MCvcPAB-MMAE、BMPEO-DM1 或 MC-MMAF) 的抗 CD79b TDC 和 / 或以所示不同剂量施用显著抑制肿瘤生长。用药物载荷大约 1.85 的 thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1(表 15)、药物载荷大约 1.9 的 thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE(表 15) 或药物载荷大约 1.9 的 thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF(表 15) 处理的异种移植物模型在研究期间显示出显著抑制肿瘤

生长。对照包括媒介（只是缓冲液）、抗 HER2 对照（thio hu-anti-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio hu-anti-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF、thio hu-anti-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE）、huMA79b.v28 对照（thio huMA79b.v28-HC(A118C)）和抗 CD22 对照（thio hu-anti-CD22(10F4v3)-HC(A118C)-MC-MMAF）。“Thio”指半胱氨酸改造抗体，而“hu”指人源化抗体。

[0420] 图 38A 是 Granta-619（人套细胞淋巴瘤）异种移植物模型中体内肿瘤生长抑制的图，显示了给具有人 B 细胞肿瘤的 SCID 小鼠施用偶联至不同接头药物模块（BMPEO-DM1 或 MC-MMAF）的抗 CD79b TDC 和 / 或以所示不同剂量施用显著抑制肿瘤生长。用药物载荷大约 1.85 的 thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1（表 16）或药物载荷大约 1.95 的 thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF（表 16）处理的异种移植物模型在研究期间显示出显著抑制肿瘤生长。对照包括抗 HER2 对照（thio hu-anti-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio hu-anti-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF）。图 38B 是来自 Granta-519 异种移植物研究（图 38A 和表 16）的小鼠中百分比体重变化的图，显示了研究的前 14 天期间体重没有显著变化。“Thio”指半胱氨酸改造抗体，而“hu”指人源化抗体。

[0421] 图 39 是 WSU-DLCL2（弥漫性大细胞淋巴瘤）异种移植物模型中体内肿瘤生长抑制的图，显示了给具有人 B 细胞肿瘤的 SCID 小鼠施用偶联至不同接头药物模块（BMPEO-DM1、MC-MMAF 或 MCvcPAB-MMAE）的抗 CD79bTDC 和 / 或以所示不同剂量施用显著抑制肿瘤生长。用药物载荷大约 1.85 的 thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1（表 17）、药物载荷大约 1.9 的 thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF（表 17）或药物载荷大约 1.9 的 thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE（表 17）处理的异种移植物模型在研究期间显示出显著抑制肿瘤生长。对照包括媒介（只是缓冲液）和抗 HER2 对照（thio hu-anti-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio hu-anti-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF、thio hu-anti-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE）。“Thio”指半胱氨酸改造抗体，而“hu”指人源化抗体。

[0422] 图 40 是 Granta-519（人套细胞淋巴瘤）异种移植物模型中体内肿瘤生长抑制的图，显示了给具有人 B 细胞肿瘤的 SCID 小鼠施用偶联至不同接头药物模块（BMPEO-DM1 或 MCvcPAB-MMAE）的抗 CD79b TDC 和 / 或以所示不同剂量施用显著抑制肿瘤生长。用药物载荷大约 1.85 的 thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1（表 18）或药物载荷大约 1.87 的 thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE（表 18）处理的异种移植物模型在研究期间显示出显著抑制肿瘤生长。对照包括抗 HER2 对照（thio hu-anti-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio hu-anti-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE）。“Thio”指半胱氨酸改造抗体，而“hu”指人源化抗体。

[0423] 图 41A-41C 显示了体外细胞增殖测定法结果的图，其中用 .001 至 10000ng/ml 的不同浓度的 TDC 处理 (A)BJAB、(B)Granta-519 或 (C)WSU-DLCL2 肿瘤细胞，包括：(1) 对照 thio hu anti-gD-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE，MMAE/Ab 载荷 2.0；(2) 对照 thio hu anti-gD-HC(A118C)-MC-MMAF，MMAF/Ab 载荷 2.1；(3) 对照 thio hu anti-gD-HC(A118C)-BMPEO-DM1，DM1/Ab 载荷 2.1；(4)thio huMA79b.v18-HC(A118C)-MC-MMAF，MMAF/Ab 载荷 1.91；(5)thio huMA79b.v18-HC(A118C)-BMPEO-DM1，DM1/Ab 载荷 1.8；和 (6)thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE，MMAE/Ab 载荷 2.0。“Thio”指半胱氨酸改造抗体，而“hu”指人源化抗体。“gD”指糖蛋白 D。

[0424] 图42显示了PRO283627cDNA的核苷酸序列(SEQ ID NO:238),其中SEQ ID NO:235是称作“DNA548455”(在本文中也称作“cyno CD79b”)的克隆。该核苷酸序列编码猕猴CD79b,其中起始和终止密码子以粗体显示且标有下划线。

[0425] 图43显示了自图42所示编码序列SEQ ID NO:235推导出的氨基酸序列(SEQ ID NO:239)。

[0426] 图44显示了抗猕猴CD79b抗体(ch10D10)的轻链的核苷酸序列(SEQ ID NO:240)。该核苷酸序列编码抗猕猴CD79b抗体(ch10D10)的轻链,其中起始和终止密码子以粗体显示且标有下划线。

[0427] 图45显示了自图44所示编码序列SEQ ID NO:240推导出的氨基酸序列(SEQ ID NO:241),缺失前18个氨基酸的信号序列。可变区(SEQ ID NO:302)是未标有下划线的区域。

[0428] 图46显示了抗猕猴CD79b抗体(ch10D10)的重链的核苷酸序列(SEQ ID NO:242)。该核苷酸序列编码抗猕猴CD79b抗体(ch10D10)的重链,其中起始和终止密码子以粗体显示且标有下划线。

[0429] 图47显示了自图46所示编码序列SEQ ID NO:242推导出的氨基酸序列(SEQ ID NO:243),缺失前18个氨基酸的信号序列和终止密码子前最后的赖氨酸(K)。可变区(SEQ ID NO:301)是未标有下划线的区域。

[0430] 图48显示了半胱氨酸改造抗猕猴CD79b抗体(Thio-anti-cynoCD79b-HC-A118C)的(A)轻链序列(SEQ ID NO:245)和(B重链序列(SEQ ID NO:244),其中重链EU第118位(连续编号第118位丙氨酸;Kabat第114位)处的丙氨酸被改变成半胱氨酸。重链EU第6位处的氨基酸D(在图中以阴影标示)或者可以是E。药物模块可附着至重链中改造的半胱氨酸基团。在每幅图中,改变的氨基酸以粗体显示且标有双下划线。单下划线标示恒定区。可变区是未标有下划线的区域。Fc区以斜体标示。“Thio”指半胱氨酸改造抗体。

[0431] 图49显示了半胱氨酸改造抗猕猴CD79b抗体(Thio-anti-cynoCD79b-LC-V205C)的(A)轻链序列(SEQ ID NO:300)和(B)重链序列(SEQ ID NO:299),其中轻链Kabat第205位(连续编号第209位缬氨酸)缬氨酸被改变成半胱氨酸。重链EU第6位处的氨基酸D(在图中以阴影标示)或者可以是E。药物模块可附着至轻链中改造的半胱氨酸基团。在每幅图中,改变的氨基酸以粗体显示且标有双下划线。单下划线标示恒定区。可变区是未标有下划线的区域。Fc区以斜体标示。“Thio”指半胱氨酸改造抗体。

[0432] 图50是BJAB-cynoCD79b(表达cynoCD79b的BJAB细胞)(伯基特氏淋巴瘤(Burkitt's lymphoma))异种移植物模型中体内肿瘤生长抑制的图,显示了给具有人B细胞肿瘤的SCID小鼠施用偶联至不同接头药物模块(BMPEO-DM1、MC-MMAF或MCvcPAB-MMAE)的抗CD79b TDC显著抑制肿瘤生长。用药物载荷大约1.85的thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1(表19)、药物载荷大约1.9的thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF(表19)、药物载荷大约1.9的thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE(表19)、药物载荷大约1.8的thio anti-cyno CD79b(ch10D10)-HC(A118C)-BMPEO-DM1(表19)、药物载荷大约1.9的thio anti-cyno CD79b(ch10D10)-HC(A118C)-MC-MMAF(表19)或药物载荷大约1.86的thio anti-cyno CD79b(ch10D10)-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE(表19)处理的异种移植物模型在研究期间显示出显著抑制肿瘤生

长。对照包括抗 HER2 对照 (thio hu-anti-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio hu-anti-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE、thio hu-anti-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF)。“Thio”指半胱氨酸改造抗体,而“hu”指人源化抗体。

[0433] 图 51 是 BJAB-cynoCD79b(表达 cynoCD79b 的 BJAB 细胞)(伯基特氏淋巴瘤 (Burkitt's lymphoma)) 异种移植物模型中体内肿瘤生长抑制的图,显示了给具有人 B 细胞肿瘤的 SCID 小鼠以所示不同剂量施用具有 BMPEO-DM1 接头药物模块的抗 CD79b TDC 显著抑制肿瘤生长。用药物载荷大约 1.85 的 thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1(表 20) 或药物载荷大约 1.8 的 thio anti-cyno(ch10D10)-HC(A118C)-BMPEO-DM1(表 20) 处理的异种移植物模型在研究期间显示出显著抑制肿瘤生长。对照包括抗 HER2 对照 (thio hu-anti-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1) 和 huMA79b.v28 对照 (thio huMA79b.v28-HC(A118C)) 和抗 cynoCD79b(ch10D10) 对照 (thio anti-cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C))。“Thio”指半胱氨酸改造抗体,而“hu”指人源化抗体。

[0434] 发明详述

[0435] 本发明提供了用于鉴定对于哺乳动物中造血肿瘤治疗有用的组合物的方法、组合物、试剂盒和制品及使用那些组合物治疗哺乳动物中造血肿瘤的方法。

[0436] 本文中提供了这些方法、组合物、试剂盒和制品的详情。

[0437] I. 通用技术

[0438] 除非另有说明,本发明的实施将采用分子生物学(包括重组技术)、微生物学、细胞生物学、生物化学和免疫学的常规技术,这些都在本领域的技术范围内。文献中充分阐述了此类技术,诸如“Molecular Cloning:A Laboratory Manual”,second edition(Sambrook et al.,1989);“Oligonucleotide Synthesis”(M.J.Gait,ed.,1984);“Animal Cell Culture”(R.I.Freshney,ed.,1987);“Methods in Enzymology”(Academic Press,Inc.);“Current Protocols in Molecular Biology”(F.M.Ausubel et al.,eds.,1987,and periodic updates);“PCR:The Polymerase Chain Reaction”,(Mullis et al.,ed.,1994);“A Practical Guide to Molecular Cloning”(Perbal Bernard V.,1988);“Phage Display:A Laboratory Manual”(Barbas et al.,2001)。

[0439] II. 定义

[0440] 为了解释本说明书的目的,应用以下定义,而且在任何适宜的时候,以单数使用的术语也会包括复数,反之亦然。在所列任何定义与通过述及收入本文的任何文件抵触的情况中,应当以下文所列定义为准。

[0441] “B 细胞表面标志物”或“B 细胞表面抗原”在本文中指在 B 细胞表面上表达的抗原,可以用能结合它的拮抗剂来靶向它,包括但不限于 B 细胞表面抗原的抗体或能够拮抗配体对天然存在 B 细胞抗原的结合的可溶形式 B 细胞表面抗原的抗体。例示性的 B 细胞表面标志物包括 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 和 CD86 白细胞表面标志物(有关说明参见《The Leukocyte Antigen Facts Book》,第 2 版,1997,Barclay 等编,Academic Press,Harcourt Brace&Co.,New York)。其它 B 细胞表面标志物包括 RP105、FcRH2、B-cell CR2、CCR6、P2X5、HLA-DOB、CXCR5、FCER2、BR3、BAFF、BLys、Btig、NAG14、SLGC16270、FcRH1、IRTA2、ATWD578、FcRH3、IRTA1、FcRH6、BCMA 和 239287。特别感

兴趣的 B 细胞表面标志物是在 B 细胞上较之哺乳动物的其它非 B 细胞组织优先表达的，而且可以是在前体 B 细胞和成熟 B 细胞二者上都表达的。

[0442] 如本文中所使用的，术语“CD79b”指来自任何脊椎动物来源（包括哺乳动物，诸如灵长类（例如人、猕猴 (cyno)）和啮齿类（例如小鼠和大鼠））的任何天然 CD79b，除非另有说明。人 CD79b 在本文中还称作“PRO36249”(SEQ ID NO:2) 且由在本文中还称作“DNA225786”的核苷酸序列 (SEQ ID NO:1) 编码。猕猴 CD79b 在本文中还称作“cyno CD79b”或“PRO283627”(SEQ ID NO:239) 且由在本文中还称作“DNA548455”的核苷酸序列 (SEQ ID NO:238) 编码。术语“CD79b”涵盖“全长”、未加工的 CD79b 以及自细胞中加工得到的任何形式的 CD79b。该术语还涵盖天然存在的 CD79b 变体，例如剪接变体、等位变体和同等型 (isoform)。本文所述 CD79b 多肽可以从多种来源分离，诸如人组织类型或其它来源，或者通过重组或合成方法制备。“天然序列 CD79b 多肽”包括与自自然界衍生的相应 CD79b 多肽具有相同氨基酸序列的多肽。此类天然序列 CD79b 多肽可以从自然界分离，或者可以通过重组或合成方法制备。术语“天然序列 CD79b 多肽”明确涵盖天然存在的截短或分泌形式的特定 CD79b 多肽（例如胞外结构域序列）、该多肽的天然存在变异形式（例如可变剪接形式）和天然存在等位变体。在本发明的某些实施方案中，本文中所公开的天然序列 CD79b 多肽是包含附图中所示全长氨基酸序列的成熟或全长天然序列多肽。起始和终止密码子（如果指明的话）在附图中以粗体显示且划有下划线。图中以“X”表示的核酸残基指任何核酸残基。然而，虽然图中所公开的 CD79b 多肽显示出以本文中在图中标示为第 1 位氨基酸的甲硫氨酸残基开始，但是想得到且和有可能的是，可以采用位于图中第 1 位氨基酸上游或下游的其它甲硫氨酸残基作为 CD79b 多肽的起始氨基酸残基。

[0443] “MA79b”或“鼠 CD79b 抗体”或“鼠抗 CD79b 抗体”在本文中用于具体指鼠抗 CD79b 单克隆抗体，其中所述鼠抗 CD79b 单克隆抗体包含轻链可变域 SEQ ID NO:10（图 7A-7B）和重链可变域 SEQ ID NO:14（图 8A-8B）。鼠抗 CD79b 单克隆抗体可以自商业来源购买，诸如 Biomeda（抗人 CD79b 抗体 ;Foster City,CA）、BDbioscience（抗人 CD79b 抗体 ;San Diego,CA) 或 Ancell（抗人 CD79b 抗体 ;Bayport,MN），或者自杂交瘤克隆 3A2-2E7（美国典型培养物保藏中心 (ATCC) 保藏物编号 HB11413，于 1993 年 7 月 20 日保藏于 ATCC) 生成。

[0444] “chMA79b”或“嵌合 MA79b 抗体”在本文中用于具体指嵌合抗人 CD79b 抗体（先前记载于 2006 年 8 月 3 日提交的美国申请 No.11/462,336），其中所述嵌合抗 CD79b 抗体包含轻链 SEQ ID NO:4（图 4）。所述轻链 SEQ ID NO:4 进一步包含可变域 SEQ ID NO:10（图 7A-7B) 和人 IgG1 轻链恒定域。所述嵌合抗 CD79b 抗体进一步包含重链 SEQ ID NO:6（图 6）。所述重链 SEQ ID NO:6 进一步包含可变域 SEQ ID NO:14（图 8A-8B) 和人 IgG1 重链恒定域。

[0445] “抗 cynoCD79b”或“抗 cyno CD79b”在本文中用于指与 cyno CD79b（图 43 的 SEQ ID NO:239) 结合的抗体（先前记载于 2006 年 8 月 3 日提交的美国申请 No.11/462,336）。“抗 cynoCD79b(ch10D10)”或“ch10D10”在本文中用于指与 cynoCD79b（图 43 的 SEQ ID NO:239) 结合的嵌合抗 cynoCD79b（先前记载于 2006 年 8 月 3 日提交的美国申请 No.11/462,336）。抗 cynoCD79b(ch10D10) 或 ch10D10 指包含轻链 SEQ ID NO:241（图 45) 的嵌合抗 cynoCD79b 抗体。抗 cynoCD79b(ch10D10) 或 ch10D10 进一步包含重链 SEQ ID NO:243（图 47）。

[0446] “MA79b- 嫁接物”或“MA79b- 嫁接的‘人源化’抗体”或“huMA79b 嫁接物”在本文中

用于具体指通过将来自鼠抗 CD79b 抗体 (MA79b) 的高变区嫁接入受体人共有 VLκ I(huKI) 和具有 R71A、N73T 和 L78A 的人亚组 III 共有 VH(huIII) 生成的嫁接物 (Carter et al.,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,89:4285(1992))(见实施例 1A 和图 7A-7B(SEQ ID NO:11) 和图 8A-8B(SEQ ID NO:15))。

[0447] 氨基酸残基 / 位点的“修饰”在用于本文时指一级氨基酸序列与起始氨基酸序列相比的变化,其中所述改变源自牵涉所述氨基酸残基 / 位点的序列改变。例如,典型的修饰包括用另一种氨基酸替代所述残基(或者在所述位置)(例如保守或非保守替代)、在所述残基 / 位置插入一个或多个(通常少于 5 个或 3 个)氨基酸、及删除所述残基 / 位置。“氨基酸替代”或其变体指用不同氨基酸残基置换预定的(起初的)氨基酸序列中现有的氨基酸残基。通常且优选的是,修饰导致与包含起始(或“野生型”)氨基酸序列的多肽相比,变体多肽的至少一种物理生化活性发生变更。例如,在抗体的情况中,发生改变的物理生化活性可以是对靶分子的结合亲和力、结合能力和 / 或结合效应。

[0448] 术语“抗体”以最广义使用,明确覆盖例如单一抗 CD79b 单克隆抗体(包括激动性抗体、拮抗性抗体、中和性抗体、全长或完整单克隆抗体)、具有多表位特异性的抗 CD79b 抗体组合物、多克隆抗体、多价抗体、自至少两种完整抗体形成的多特异性抗体(例如双特异性抗体,只要它们展现出期望的生物学活性)、单链抗 CD79b 抗体和抗 CD79b 抗体片段(见下文)(包括 Fab、Fab'、$F(ab')_2$ 和 Fv 片段)、双抗体、单域抗体 (sdAb),只要它们展现出期望的生物学或免疫学活性。术语“免疫球蛋白”(Ig) 在本文中与“抗体”可互换使用。抗体可以是人的、人源化的和 / 或亲和力成熟的。

[0449] 术语“抗 CD79b 抗体”或“与 CD79b 结合的抗体”指能够以足够亲和力结合 CD79b 的抗体,使得该抗体作为靶向 CD79b 中的诊断剂和 / 或治疗剂是有用的。优选的是,抗 CD79b 抗体结合无关的非 CD79b 蛋白质的程度小于该抗体对 CD79b 的结合的约 10%,根据例如放射免疫测定法 (RIA) 的测量。在某些实施方案中,与 CD79b 结合的抗体具有≤ 1μM、≤ 100nM、≤ 10nM、≤ 1nM 或≤ 0.1nM 的解离常数 (Kd)。在某些实施方案中,抗 CD79b 抗体结合在来自不同物种的 CD79b 间保守的 CD79b 表位。

[0450] “分离的”抗体指已经鉴定且自其天然环境的一种成分分开和 / 或回收的抗体。其天然环境的污染性成分指将会干扰该抗体的治疗用途的物质,可包括酶、激素和其它蛋白质性质或非蛋白质性质的溶质。在优选的实施方案中,将抗体纯化至 (1) 根据 Lowry 法的测定,抗体重量超过 95%,最优选重量超过 99%,(2) 足以通过使用转杯式测序仪获得至少 15 个残基的 N- 末端或内部氨基酸序列的程度,或 (3) 根据还原性或非还原性条件下的 SDS-PAGE 及使用考马斯蓝或优选的银染色,达到同质。既然抗体天然环境的至少一种成分不会存在,那么分离的抗体包括重组细胞内的原位抗体。然而,分离的抗体通常将通过至少一个纯化步骤来制备。

[0451] 基本的 4 链抗体单元是由两条相同的轻链 (L) 和两条相同的重链 (H) 构成的异四聚体糖蛋白 (IgM 抗体由 5 个基本的异四聚体单元及称作 J 链的另外多肽组成,因此包含 10 个抗原结合位点;而分泌型 IgA 抗体可聚合而形成包含 2-5 个基本的 4 链单元及 J 链的多价装配物)。在 IgG 的情况中,4 链单元通常是约 150,000 道尔顿。每条轻链通过一个共价二硫键与重链相连,而两条重链通过一个或多个二硫键彼此相连,二硫键的数目取决于重链的同种型。每条重链和轻链还具有间隔规律的链内二硫键。每条重链在 N- 末端具有一个

可变区 (VH)，接着是三个（对于 α 和 γ 链）或四个（对于 μ 和 ε 同种型）恒定区 (CH)。每条轻链在 N- 末端具有一个可变区 (VL)，接着是其另一端的一个恒定区 (CL)。VL 与 VH 排列在一起，而 CL 与重链第一恒定区 (CH1) 排列在一起。认为特定的氨基酸残基在轻链和重链可变区之间形成界面。一个 VH 和一个 VL 一起配对而形成一个抗原结合位点。关于不同类别抗体的结构和性质，参见例如 Basic and Clinical Immunology, 8th edition, Daniel P. Stites, Abba I. Terr and Tristram G. Parslow (eds.), Appleton&Lange, Norwalk, CT, 1994, page 71 and Chapter 6。

[0452] 根据其恒定域氨基酸序列，来自任何脊椎动物物种的 L 链可归入两种截然不同类型中的一种，称作卡帕（κ）和拉姆达（λ）。根据其重链恒定域 (C_H) 氨基酸序列，免疫球蛋白可归入不同的类别或同种型。有五类免疫球蛋白：IgA、IgD、IgE、IgG 和 IgM，分别具有称作 α、δ、ε、γ 和 μ 的重链。根据 C_H 序列和功能的较小差异，γ 和 α 类可进一步分为亚类，例如人类表达下列亚类：IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1 和 IgA2。

[0453] 抗体的“可变区”或“可变域”指抗体重链或轻链的氨基末端结构域。重链的可变域可以称为“VH”。轻链的可变域可以称为“VL”。这些结构域一般是抗体的最易变部分且包含抗原结合位点。

[0454] 术语“可变的”指可变域中的某些区段在抗体间序列差异广泛的实情。V 结构域介导抗原结合并限定特定抗体对其特定抗原的特异性。然而，变异性并非均匀分布于可变域跨越的 110 个氨基酸。事实上，V 区由 15-30 个氨基酸，称作框架区 (FR) 的相对不变异的区段及将框架区分开的每个长度为 9-12 个氨基酸，称作“高变区”的极度变异的较短区域组成。天然重链和轻链的可变域各自包含四个 FR，它们大多采取 β- 折叠片构象，通过形成环状连接且在有些情况中形成 β- 折叠片结构一部分的三个高变区连接。每条链中的高变区通过 FR 非常接近地保持在一起，并与另一条链的高变区一起促成抗体的抗原结合位点的形成（参见 Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991))。恒定域不直接参与抗体与抗原的结合，但展现出多种效应器功能，诸如抗体依赖性细胞的细胞毒性 (ADCC) 中抗体的参与。

[0455] “完整抗体”指包含抗原结合位点以及 CL 和至少重链恒定域 CH1、CH2 和 CH3 的抗体。恒定域可以是天然序列恒定区（例如人天然序列恒定区）或其氨基酸序列变体。优选的是，完整抗体具有一项或多项效应器功能。

[0456] “裸抗体（裸露的抗体）”为本发明目的指未偶联细胞毒性模块或放射性标记物的抗体。

[0457] “抗体片段”包含完整抗体的一部分，优选完整抗体的抗原结合或可变区。抗体片段的例子包括 Fab、Fab'、$F(ab')_2$ 和 Fv 片段；双抗体；线性抗体（参见美国专利 5,641,870，实施例 2；Zapata et al., Protein Eng. 8(10):1057-1062(1995))；单链抗体分子；及由抗体片段形成的多特异性抗体。在一个实施方案中，抗体片段包含完整抗体的抗原结合位点，如此保留结合抗原的能力。

[0458] 用木瓜蛋白酶消化抗体产生两个相同的抗原结合片段，称作“Fab”片段，和残余“Fc”片段，其名称反映了它易于结晶的能力。Fab 片段由完整轻链及重链的可变区 (V_H) 和第一恒定区 (C_H1) 组成。每个 Fab 片段对于抗原结合是单价的，即它具有一个抗原结合位

点。胃蛋白酶处理抗体产生一个较大 F(ab')$_2$ 片段，它粗略相当于两个通过二硫键相连的 Fab 片段，具有二价抗原结合活性且仍能够交联抗原。Fab' 片段因在 C_H1 结构域的羧基末端增加了少数残基而与 Fab 片段有所不同，包括来自抗体铰链区的一个或多个半胱氨酸。Fab'-SH 是本文中对其中恒定区半胱氨酸残基携带一个游离硫醇基的 Fab' 的称谓。F(ab')$_2$ 抗体片段最初是作为成对 Fab' 片段生成的，在 Fab' 片段之间具有铰链半胱氨酸。还知道抗体片段的其它化学偶联。

[0459] Fc 片段包含通过二硫键保持在一起的所有两条重链的羧基末端部分。抗体的效应器功能是由 Fc 区中的序列决定的，该区还是受到在某些类型的细胞上找到的 Fc 受体 (FcR) 所识别的部分。

[0460] “Fv”是包含完整抗原识别和结合位点的最小抗体片段。该片段由紧密、非共价结合的一个重链可变域和一个轻链可变域的二聚体组成。在单链 Fv 种类中，一个重链可变域和一个轻链可变域可以通过柔性肽接头共价相连，使得轻链和重链在与双链 Fv 种类类似的“二聚体”结构中相结合。从这两个结构域的折叠结构中散发出六个高变环（重链和轻链各 3 个环），其贡献出供结合抗原的氨基酸残基并赋予抗体以抗原结合特异性。然而，即使是单个可变域（或是只包含对抗原特异性的三个 CDR 的半个 Fv）也具有识别和结合抗原的能力，只是亲和力低于完整结合位点。

[0461] “单链 Fv”，也可缩写为“sFv”或“scFv”，是包含连接成一条多肽链的抗体 V_H 和 V_L 结构域的抗体片段。优选的是，sFv 多肽在 V_H 和 V_L 结构域之间还包含多肽接头，使得 sFv 形成抗原结合期望的结构。关于 sFv 的综述参见 Plückthun，《The Pharmacology of Monoclonal Antibodies》，vol. 113，Rosenburg 和 Moore 编，Springer-Verlag，New York，pp. 269-315，1994；Borrebaeck 1995，见下文。

[0462] 术语“双抗体”指具有两个抗原结合位点的抗体片段，该片段在同一条多肽链 (V_H-V_L) 中包含相连的重链可变域 (V_H) 和轻链可变域 (V_L)。通过在 V_H 和 V_L 结构域之间使用短接头（约 5-10 个残基）构建 sFv 片段（见上一段）来制备小型抗体片段，由于接头短，使得 V 结构域实行链间而非链内配对，导致二价片段，即具有两个抗原结合位点的片段。双抗体可以是二价的或双特异性的。双特异性双抗体是两个“交叉”sFv 片段的异二聚体，其中两种抗体的 V_H 和 V_L 结构域存在于不同多肽链上。双抗体更完整的描述于例如 EP 404,097；WO 93/11161；Hudson et al.，Nat. Med. 9:129-134(2003)；及 Hollinger et al.，Proc. Natl. Acad. Sci. USA，90:6444-6448(1993)。三抗体 (Triabody) 和四抗体 (tetrabody) 也记载于 Hudson et al.，Nat. Med. 9:129-134(2003)。

[0463] 术语“单克隆抗体”在用于本文时指从一群基本上同质的抗体获得的抗体，即构成群体的各抗体个体是相同的，除了可以以极小量存在的可能的天然存在突变形式外。单克隆抗体是高度特异性的，针对单一抗原性位点。此外，与包含针对不同决定簇（表位）的不同抗体的多克隆抗体制备物不同，每种单克隆抗体针对抗原上的单一决定簇。在它们的特异性之外，单克隆抗体的优势在于它们可以在未受到其它抗体污染的情况中合成。修饰语“单克隆”不应解释为要求通过任何特定方法来生成抗体。例如，可用于本发明的单克隆抗体可通过最初由 Kohler 等 (1975)Nature 256:495 记载的杂交瘤方法来制备，或者可通过重组 DNA 方法在细菌、真核动物或植物细胞中制备（参见例如美国专利 No. 4,816,567）。“单克隆抗体”还可使用例如 Clackson 等 (1991)Nature 352:624-628；和 Marks 等 (1991)

J.Mol.Biol.222:581-597 中记载的技术从噬菌体抗体库分离。

[0464] 单克隆抗体在本文中包括“嵌合”抗体，其中重链和 / 或轻链的一部分与衍生自特定物种或属于特定抗体类别或亚类的抗体中的相应序列相同或同源，而链的剩余部分与衍生自另一物种或属于另一抗体类别或亚类的抗体中的相应序列相同或同源，以及此类抗体的片段，只要它们展现出期望的生物学活性（参见美国专利 No.4,816,567 ;Morrison et al.,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 81:6851-6855(1984)）。本文中感兴趣的嵌合抗体包括包含衍生自非人灵长类动物（例如旧大陆猴类 (Old World Monkey)、猿等）的可变域抗原结合序列和人恒定区序列的“灵长类化”抗体。

[0465] 非人（例如啮齿类）抗体的“人源化”形式指最低限度包含衍生自非人抗体的序列的嵌合抗体。在极大程度上，人源化抗体指人免疫球蛋白（受体抗体）中的高变区残基用具有期望抗体特异性、亲和力和能力的非人物种（供体抗体）诸如小鼠、大鼠、兔或非人灵长类动物的高变区残基替换的免疫球蛋白。在有些情况中，将人免疫球蛋白的框架区 (FR) 残基用相应的非人残基替换。此外，人源化抗体可包含在受体抗体或供体抗体中没有找到的残基。进行这些修饰是为了进一步改进抗体的性能。一般而言，人源化抗体将包含至少一个、通常两个基本上整个如下可变域，其中所有或基本上所有高变环对应于非人免疫球蛋白的高变环，且所有或基本上所有 FR 是人免疫球蛋白序列的 FR。人源化抗体任选还将包含至少部分免疫球蛋白恒定区 (Fc)，通常是人免疫球蛋白的恒定区。更多细节参见 Jones et al.,Nature 321:522-525(1986) ;Riechmann et al.,Nature 332:323-329(1988) ;和 Presta,Curr.Op.Struct.Biol.2:593-596(1992)。还可参见以下综述及其引用的参考文献 :Vaswani and Hamilton,Ann.Allergy,Asthma and Immunol.,1:105-115(1998) ;Harris,Biochem.Soc.Transactions,23:1035-1038(1995) ;Hurle and Gross,Curr.Op.Biotech.,5:428-433(1994)。

[0466] “thio”在本文中用于指抗体时指半胱氨酸改造抗体，而“hu”在本文中用于指抗体时指人源化抗体。

[0467] “人抗体”指拥有与由人生成的抗体的氨基酸序列对应的氨基酸序列和 / 或使用本文所公开的用于生成人抗体的任何技术生成的抗体。人抗体的这种定义明确排除包含非人抗原结合残基的人源化抗体。人抗体可使用本领域已知的多种技术来生成，包括噬菌体展示文库 (Hoogenboom and Winter,J.Mol.Biol.227:381(1991) ;Marks et al.,J.Mol.Biol.222:581(1991))。还可用于制备人单克隆抗体的是以下文献中记载的方法 :Cole et al.,Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy,Alan R.Liss,p.77(1985) ;Boerner et al.,J.Immunol.147(1):86-95(1991)。还可参见 van Dijk and van de Winkel,Curr.Opin.Pharmacol.,5:368-74(2001)。可通过给已经修饰以应答抗原性刺激而生成人抗体但其内源基因组已经失能的转基因动物例如经过免疫的异种小鼠 (xenomice) 施用抗原来制备人抗体（参见例如 6,075,181 和 6,150,584，关于 XENOMOUSE™ 技术）。还可参见例如 Li et al.,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,103:3557-3562(2006)，关于经人 B- 细胞杂交瘤技术生成的人抗体。

[0468] 术语“高变区”、“HVR”或“HV”在用于本文时指抗体可变域中序列上高度可变和 / 或形成结构上定义的环的区域。通常，抗体包含六个高变区 :三个在 VH 中 (H1、H2、H3)，三个在 VL 中 (L1、L2、L3)。本文中使用且涵盖许多高变区的叙述。Kabat 互补决定

区(CDR)是以序列变异性为基础的且是最常用的(Kabat et al.,Sequences of Proteins of Immunological Interest,5th Ed.Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD.(1991))。Chothia改为指结构环的位置(Chothia and Lesk J.Mol. Biol.196:901-917(1987))。Chothia CDR-H1环的末端在使用Kabat编号规则编号时在H32与H34之间变化,取决于环的长度(这是因为Kabat编号方案在H35A和H35B处放置插入;如果35A和35B都不存在,那么该环在32处结束;如果只有35A存在,那么该环在33处结束;如果35A和35B都存在,那么该环在34处结束)。AbM高变区代表Kabat CDR与Chothia结构环之间的折衷,而且得到Oxford Molecular的AbM抗体建模软件的使用。"接触"高变区是以对可获得的复合物晶体结构的分析为基础的。下文记录了这些高变区中每一个的残基。

[0469]

环	Kabat	AbM	Chothia	接触
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	H26-H35B	H26-H32..34	H30-H35B

[0470] (Kabat编号)

[0471] H1 H31-H35 H26-H35 H26-H32 H30-H35

[0472] (Chothia编号)

[0473]

H2	H50-H65	H50-H58	H52-H56	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H95-H102	H93-H101

[0474] 高变区可包括如下"延伸的高变区":VL中的24-36或24-34(L1)、46-56或50-56(L2)和89-97(L3)及VH中的26-35B(H1)、50-65/47-65或49-65(H2)和93-102、94-102或95-102(H3)。对于这些定义中的每一个,可变区残基是依照Kabat等,见上文编号的。

[0475] "框架"或"FR"残基指可变域中那些除此处定义的高变区残基以外的残基。

[0476] 术语"如Kabat中的可变域残基编号方式"或"如Kabat中的氨基酸位置编号方式"及其变化形式指Kabat等,《Sequences of Proteins of Immunological Interest》,第5版,Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD(1991)中用于抗体重链可变域或轻链可变域编辑的编号系统。使用此编号系统,实际的线性氨基酸序列可以包含较少的或另外的氨基酸,对应于可变域FR或CDR的缩短或插入。例如,重链可变域可以包含H2残基52后的单一氨基酸插入(依照Kabat的残基52a)和重链FR残基82后的插入残基(例如依照Kabat的残基82a、82b和82c等)。给定抗体的Kabat残基编号可以通过将抗体序列与"标准"Kabat编号序列对比同源区来确定。

[0477] Kabat编号系统一般在提及可变域中的残基(大约是轻链残基1-107和重链残

基 1-113) 时使用（例如 Kabat et al.,Sequences of Immunological Interest.5th Ed.Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,Md.(1991))。“EU 编号系统”或“EU 指数”一般在提及免疫球蛋白重链恒定区中的残基时使用（例如 Kabat et al., 见上文中报道的 EU 指数）。“Kabat 中的 EU 指数”指人 IgG1EU 抗体的残基编号方式。除非本文中另有说明，提及抗体可变域中的残基编号指根据 Kabat 编号系统的残基编号方式。除非本文中另有说明，提及抗体恒定域中的残基编号指根据 EU 编号系统的残基编号方式（例如参见美国临时申请 60/640,323，关于 EU 编号方式的图）。

[0478] “亲和力成熟的”抗体指在抗体的一个或多个 HVR 中具有一处或多处改变、导致该抗体对抗原的亲和力与没有这些改变的亲本抗体相比有所改进的抗体。优选的亲和力成熟的抗体具有纳摩尔或甚至皮摩尔量级的对靶抗原的亲和力。亲和力成熟的抗体可通过本领域已知规程来生成。Marks et al.,Bio/Technology 10:779-783(1992) 记载了通过 VH 和 VL 结构域改组进行的亲和力成熟。以下文献记载了 HVR 和 / 或框架残基的随机诱变：Barbas et al.,Proc.Nat.Acad.Sci.USA 91:3809-3813(1994)；Schier et al.,Gene 169:147-155(1995)；Yelton et al.,J.Immunol.155:1994-2004(1995)；Jackson et al.,J.Immunol.154(7):3310-9(1995)；Hawkins et al.,J.Mol.Biol.226:889-896(1992)。

[0479] “阻断性”抗体或“拮抗性”抗体指抑制或降低其所结合的抗原的生物学活性的抗体。优选的阻断性抗体或拮抗性抗体实质或完全抑制抗原的生物学活性。

[0480] “激动性抗体”在用于本文时指模拟目的多肽的至少一项功能性活性的抗体。

[0481] “物种依赖性抗体”，例如哺乳动物抗人 IgE 抗体，指对来自第一哺乳动物物种的抗原具有强于对该抗原来自第二哺乳动物物种的同系物的结合亲和力的抗体。通常，物种依赖性抗体“特异性结合”人类抗原（即具有不超过约 $1x10^{-7}$M，优选不超过约 $1x10^{-8}$M，最优选不超过约 $1x10^{-9}$M 的结合亲和力 (Kd))，但对该抗原来自第二非人哺乳动物物种的同系物具有比其对人类抗原的结合亲和力弱至少约 50 倍，或至少约 500 倍，或至少约 1000 倍的结合亲和力。物种依赖性抗体可以是如上定义的各种类型的抗体，但优选人源化抗体或人抗体。

[0482] “结合亲和力”通常指分子（例如抗体）的单一结合位点与其结合配偶体（例如抗原）之间全部非共价相互作用总和的强度。除非另有说明，在用于本文时，“结合亲和力”指反映结合对的成员（例如抗体与抗原）之间 1:1 相互作用的内在结合亲和力。分子 X 对其配偶体 Y 的亲和力通常可用解离常数 (Kd) 来表述。亲和力可通过本领域知道的常用方法来测量，包括本文中所描述的那些。低亲和力抗体通常缓慢的结合抗原且趋于容易解离，而高亲和力抗体通常更快速的结合抗原且趋于保持更长时间的结合。本领域知道测量结合亲和力的多种方法，其中任一种都可用于本发明的目的。下文描述了具体的示例性实施方案。

[0483] “或更好的”在本文中用于指结合亲和力时指分子与其结合配偶之间更强的结合。“或更好的”在本文中使用时指更强的结合物，以更小的 Kd 值来代表。例如，具有“.6nM 或更好的”对抗原的亲和力的抗体，抗体对抗原的亲和力 <.6nM，即 .59nM、.58nM、.57nM 等或任何小于 .6nM 的值。

[0484] 在一个实施方案中，依照本发明的“Kd”或“Kd 值”是通过如下测定法所述使用 Fab 型式的目的抗体及其抗原进行的放射性标记抗原结合测定法 (RIA) 来测量的：通过在存在未标记抗原的滴定系列的条件下，用最小浓度的 ^{125}I 标记抗原平衡 Fab，然后用抗 Fab

抗体包被的平板捕捉结合的抗原来测量 Fab 对抗原的溶液结合亲和力 (Chen, et al., J Mol Biol 293:865-881(1999))。为了确定测定条件,用 50mM 碳酸钠 (pH 9.6) 中的 5μg/ml 捕捉用抗 Fab 抗体 (Cappel Labs) 包被微量滴定板 (Dynex) 过夜,随后用 PBS 中的 2% (w/v) 牛血清清蛋白在室温 (约 23℃) 封闭 2-5 小时。在非吸附平板 (Nunc#269620) 中,将 100pM 或 26pM[^{125}I]- 抗原与连续稀释的目的 Fab 混合 (例如与 Presta et al., Cancer Res. 57:4593-4599(1997) 中抗 VEGF 抗体, Fab-12 的评估一致)。然后将目的 Fab 保温过夜 ;不过,保温可持续更长时间 (例如 65 个小时) 以保证达到平衡。此后,将混合物转移至捕捉板以进行室温保温 (例如 1 小时)。然后除去溶液,并用含 0.1% Tween-20 的 PBS 洗板 8 次。平板干燥后,加入 150μl/ 孔闪烁液 (MicroScint-20 ;Packard),然后在 Topcount 伽马计数器 (Packard) 上对平板计数 10 分钟。选择各 Fab 给出小于或等于最大结合之 20% 的浓度用于竞争性结合测定法。依照另一实施方案,Kd 或 Kd 值是通过表面等离振子共振测定法使用 BIAcore™-2000 或 BIAcore™-3000(BIAcore, Inc., Piscataway, NJ) 在 25℃使用固定化抗原 CM5 芯片在约 10 个响应单位 (RU) 测量的。简而言之,依照供应商的说明书用盐酸 N- 乙基 -N'-(3- 二甲基氨基丙基)- 碳化二亚胺 (EDC) 和 N- 羟基琥珀酰亚胺 (NHS) 活化羧甲基化右旋糖苷生物传感器芯片 (CM5, BIAcore Inc.)。用 10mM 乙酸钠 pH 4.8 将抗原稀释至 5μg/ml(约 0.2μM),然后以 5μl/ 分钟的流速注入至获得约 10 个响应单位 (RU) 的偶联蛋白质。注入抗原后,注入 1M 乙醇胺以封闭未反应基团。为了进行动力学测量,在 25℃以约 25μl/ 分钟的流速注入在含 0.05% Tween-20 的 PBS(PBST) 中两倍连续稀释的 Fab(0.78nM 至 500nM)。使用简单一对一朗格缪尔 (Langmuir) 结合模型 (BIAcore Evaluation Software version 3.2) 通过同时拟合结合和解离传感图计算结合速率 (k_{on}) 和解离速率 (k_{off})。平衡解离常数 (Kd) 以比率 k_{off}/k_{on} 计算。参见例如 Chen, Y., et al., J Mol Biol 293:865-881(1999)。如果根据上文表面等离振子共振测定法,结合速率超过 $10^6M^{-1}S^{-1}$,那么结合速率可使用荧光淬灭技术来测定,即根据分光计诸如配备了断流装置的分光光度计 (a stop-flow equipped spectrophometer)(Aviv Instruments) 或 8000 系列 SLM-Aminco 分光光度计 (ThermoSpectronic) 中用搅拌比色杯的测量,在存在浓度渐增的抗原的条件下,测量 PBS, pH 7.2 中的 20nM 抗抗原抗体 (Fab 形式) 在 25℃的荧光发射强度 (激发 = 295nm ;发射 = 340nm, 16nm 带通) 的升高或降低。

[0485] 依照本发明的“结合速率”(on-rate, rate of association, association rate) 或“k_{on}”也可通过上文所述相同的表面等离振子共振技术使用 BIAcore™-2000 或 BIAcore™-3000(BIAcore, Inc., Piscataway, NJ) 来测定。

[0486] 短语“基本上相似”或“基本上相同”在用于本文时表示两个数值 (通常一个涉及本发明的抗体而另一个涉及参照 / 比较抗体) 之间足够高的相似程度,以致本领域技术人员将认为在用所述数值 (例如 Kd 值) 所测量的生物学特性背景内两个数值之间的差异具有很小的或没有生物学和 / 或统计学显著性。作为参照 / 比较抗体该数值的函数,所述两个数值之间的差异优选小于约 50%,优选小于约 40%,优选小于约 30%,优选小于约 20%,优选小于约 10%。

[0487] 短语“实质性降低”或“实质性不同”在用于本文时表示两个数值 (通常一个涉及本发明的抗体而另一个涉及参照 / 比较抗体) 之间足够高的差异程度,以致本领域技术人员将认为在用所述数值 (例如 Kd 值、HAMA 反应) 所测量的生物学特性背景内两个数值之间

的差异具有统计学显著性。作为参照 / 比较抗体该数值的函数，所述两个数值之间的差异优选大于约 10％，优选大于约 20％，优选大于约 30％，优选大于约 40％，优选大于约 50％。

[0488] “抗原”指抗体可选择性结合的预定抗原。靶抗原可以是多肽、碳水化合物、核酸、脂质、半抗原或其它天然存在的或合成的化合物。优选的是，靶抗原是多肽。

[0489] 就本文目的而言，“受体人框架”是包含衍生自人免疫球蛋白框架或人共有框架的 VL 或 VH 框架之氨基酸序列的框架。“衍生自”人免疫球蛋白框架或人共有框架的受体人框架可包含与之相同的氨基酸序列，或者可包含预先存在的氨基酸序列变化。当存在预先存在的氨基酸变化时，优选存在不超过 5 个，优选 4 个或更少，或者 3 个或更少预先存在的氨基酸变化。当 VH 中存在预先存在的氨基酸变化时，优选那些变化只位于 71H、73H 和 78H 中的三个、两个或一个位置 ；例如，位于那些位置的氨基酸残基可以是 71A、73T 和 / 或 78A。在一个实施方案中，VL 受体人框架在序列上与 VL 人免疫球蛋白框架序列或人共有框架序列相同。

[0490] “人共有框架”指代表人免疫球蛋白 VL 或 VH 框架序列选集中最常见的氨基酸残基的框架。通常，人免疫球蛋白 VL 或 VH 序列选集来自可变区序列亚型。通常，序列亚型是如 Kabat 等人的亚型。在一个实施方案中，对于 VL，亚型是如 Kabat 等人的亚型 κ I。在一个实施方案中，对于 VH，亚型是如 Kabat 等人的亚型 III。

[0491] “VH 亚型 III 共有框架”包含从 Kabat 等人的可变重链亚型 III 中的氨基酸序列获得的共有序列。在一个实施方案中，VH 亚型 III 共有框架氨基酸序列包含下列各序列的至少一部分或整个全部 ：EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS(SEQ ID NO:143)-H1-WVRQAPGKGLEWV(SEQ ID NO:144)-H2-RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC(SEQ ID NO:145)-H3-WGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:146)。

[0492] “VL 亚型 I 共有框架”包含从 Kabat 等人的可变轻链 κ 亚型 I 中的氨基酸序列获得的共有序列。在一个实施方案中，VL 亚型 I 共有框架氨基酸序列包含下列各序列的至少一部分或整个 ：DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC(SEQ ID NO:139)-L1-WYQQKPGKAPKLLIY(SEQ ID NO:140)-L2-GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC(SEQ ID NO:141)-L3-FGQGTKVEIKR(SEQ ID NO:142)。

[0493] “未修饰的人框架”指与受体人框架具有相同氨基酸序列的人框架，例如在受体人框架中缺少人到非人的氨基酸替代。

[0494] “改变的高变区”就本文目的而言指其中包含一处或多处 (例如 1 处至约 16 处) 氨基酸替代的高变区。

[0495] “未修饰的高变区”就本文目的而言指具有与衍生它的非人抗体相同的氨基酸序列的高变区，即其中缺少一处或多处氨基酸替代的高变区。

[0496] “结合”目的抗原例如肿瘤相关多肽抗原靶物的抗体指以足够亲和力结合该抗原，使得该抗体可作为治疗剂用于靶向表达该抗原的细胞或组织且不显著与其它蛋白质发生交叉反应的多肽、抗体、拮抗剂或组合物。在此类实施方案中，根据荧光激活细胞分选 (FACS) 分析或放射免疫沉淀 (RIA) 的测定，抗体结合“非靶物”蛋白质的程度将小于该抗体对其特定靶物蛋白质的结合的约 10％。对于抗体对靶分子的结合，术语“特异结合”或“特异性结合”特定多肽或特定多肽靶物上的表位或对其“特异”意味着可测量的不同于非特异相互作用的结合。特异结合可通过例如测定分子的结合并与对照分子的结合比较来测量，

所述对照分子通常是结构相似但没有结合活性的分子。例如，特异结合可通过与对照分子的竞争来测定，所述对照分子与靶物相似，例如过量的未标记靶物。在这种情况中，若经标记靶物与探针的结合受到过量未标记靶物的竞争性抑制，则指示特异结合。术语“特异结合”或“特异性结合”特定多肽或特定多肽靶物上的表位或对其“特异”在用于本文时可由例如对靶物的 Kd 为至少约 10^{-4}M，或至少约 10^{-5}M，或至少约 10^{-6}M，或至少约 10^{-7}M，或至少约 10^{-8}M，或至少约 10^{-9}M，或至少约 10^{-10}M，或至少约 10^{-11}M，或至少约 10^{-12}M 或更大的分子展现。在一个实施方案中，术语“特异结合”指这样的结合，其中分子结合特定多肽或特定多肽上的表位，而基本上不结合任何其它多肽或多肽表位。

[0497] “抑制表达 CD79b 多肽的肿瘤细胞生长”的抗体或者“生长抑制性”抗体指导致可测量的表达或共表达适宜 CD79b 多肽的癌细胞生长抑制的抗体。所述 CD79b 多肽可以是在癌细胞表面上表达的跨膜多肽，或者可以是由癌细胞生成并分泌的多肽。优选的生长抑制性抗体与适宜对照相比对表达 CD79b 的肿瘤细胞生长的抑制超过 20％、优选大约 20％到大约 50％和甚至更优选超过 50％（例如大约 50％到大约 100％），所述对照通常是未用所测试的抗体处理的肿瘤细胞。在一个实施方案中，生长抑制可以在细胞培养物中的抗体浓度为大约 0.1-30μg/ml 或大约 0.5nM 到 200nM 时测量，其中生长抑制在肿瘤细胞暴露于抗体后 1-10 天测定。体内肿瘤细胞生长抑制可以以多种方式测定，诸如下文实验实施例部分所描述的。如果抗 CD79b 抗体大约 1μg/kg 到大约 100mg/kg 体重的施用导致在距首次施用抗体大约 5 天到 3 个月内（优选大约 5-30 天内）肿瘤体积缩小或肿瘤细胞增殖减慢，那么该抗体在体内是生长抑制性的。

[0498] “诱导凋亡”的抗体指根据膜联蛋白 V 结合、DNA 断裂、细胞收缩、内质网膨胀、细胞破裂和 / 或膜囊（称作凋亡小体）形成的测定，诱导程序性细胞死亡的抗体。所述细胞通常是过表达 CD79b 多肽受体的细胞。优选的是，所述细胞是肿瘤细胞，例如造血细胞，诸如 B 细胞、T 细胞、嗜碱性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜中性粒细胞、单核细胞、血小板或红细胞。有多种方法可用于评估与凋亡有关的细胞事件。例如，可通过膜联蛋白结合来测量磷脂酰丝氨酸 (PS) 易位；可通过 DNA 梯化 (laddering) 来评估 DNA 断裂；可通过亚二倍体细胞的任何增加来评估伴随着 DNA 断裂的核 / 染色质浓缩。优选的是，诱导凋亡的抗体是在膜联蛋白结合测定法中导致对膜联蛋白的结合相对于未处理细胞诱导约 2 至 50 倍，优选约 5 至 50 倍，最优选约 10 至 50 倍的抗体。

[0499] “诱导细胞死亡”的抗体指引起可存活细胞变得不能存活的抗体。所述细胞指表达 CD79b 多肽且属于明确表达或共表达 CD79b 多肽的类型的细胞。所述细胞可以是特定细胞类型的癌性或正常细胞。所述 CD79b 多肽可以是在癌细胞表面上表达的跨膜多肽，或者可以是由癌细胞生成和分泌的多肽。所述细胞可以是癌细胞，例如 B 细胞或 T 细胞。体外细胞死亡可在不存在补体或免疫效应细胞时测定，以区分由抗体依赖性细胞介导的细胞毒性 (ADCC) 或补体依赖性细胞毒性 (CDC) 诱导的细胞死亡。如此，用于细胞死亡的测定法可使用热灭活血清（即不含补体）在不存在免疫效应细胞时进行。为了确定抗体是否能够诱导细胞死亡，可相对于未处理细胞评估膜完整性的丧失，它是通过碘化丙啶 (propidium iodide)(PI)、锥虫蓝（参见 Moore et al.,Cytotechnology17:1-11(1995)）或 7AAD 的摄取来评估的。优选的诱导细胞死亡的抗体是在 PI 摄取测定法中在 BT474 细胞中诱导 PI 摄取的抗体。

[0500] 抗体“效应器功能”指那些可归于抗体 Fc 区（天然序列 Fc 区或氨基酸序列变体 Fc 区）且随抗体同种型而变化的生物学活性。抗体效应器功能的例子包括 :C1q 结合和补体依赖性细胞毒性 ;Fc 受体结合 ;抗体依赖性细胞介导的细胞毒性 (ADCC) ;吞噬作用 ;细胞表面受体（例如 B 细胞受体）下调 ;和 B 细胞活化。

[0501] 术语“Fc 区”在本文中用于定义免疫球蛋白重链的 C- 端区域，包括天然序列 Fc 区和变异 Fc 区。虽然免疫球蛋白重链 Fc 区的边界可以变化，但是人 IgG 重链 Fc 区通常定义为自其 Cys226 或 Pro230 位置的氨基酸残基至羧基末端的区段。Fc 区的 C- 末端赖氨酸（残基 447，依照 EU 编号系统）可以消除，例如在生产或纯化抗体的过程中，或者通过对编码抗体重链的核酸进行重组工程改造。因而，完整抗体组合物可以包括所有 K447 残基都被消除的抗体群、无一 K447 残基被消除的抗体群或者混合了有 K447 残基的抗体和没有 K447 残基的抗体的抗体群。

[0502] “功能性 Fc 区”拥有天然序列 Fc 区的“效应器功能”。例示性的“效应器功能”包括 C1q 结合 ;CDC ;Fc 受体结合 ;ADCC ;吞噬作用 ;细胞表面受体（例如 B 细胞受体 ;BCR) 下调等。此类效应器功能一般要求 Fc 区与结合结构域（例如抗体可变域）联合，而且可以使用多种测定法来评估，例如本文定义中所公开的。

[0503] “天然序列 Fc 区”包含与在自然界中找到的 Fc 区的氨基酸序列相同的氨基酸序列。天然序列人 Fc 区包括天然序列人 IgG1Fc 区（非 A 和 A 同种异型）;天然序列人 IgG2Fc 区 ;天然序列人 IgG3Fc 区 ;和天然序列人 IgG4Fc 区 ;及其天然存在变体。

[0504] “变异 Fc 区”包含由于至少一处氨基酸修饰（优选一处或多处氨基酸替代）而与天然序列 Fc 区有所不同的氨基酸序列。优选的是，变异 Fc 区与天然序列 Fc 区相比或与亲本多肽的 Fc 区相比具有至少一处氨基酸替代，例如在天然序列 Fc 区中或在亲本多肽的 Fc 区中具有约 1 处至约 10 处氨基酸替代，优选约 1 处至约 5 处氨基酸替代。变异 Fc 区在本文中优选与天然序列 Fc 区和 / 或亲本多肽的 Fc 区拥有至少约 80％的同源性，最优选与它们具有至少约 90％的同源性，更优选与它们具有至少约 95％的同源性。

[0505] “抗体依赖性细胞介导的细胞毒性”或“ADCC”指其中结合到某些细胞毒性细胞（例如天然杀伤 (NK) 细胞、嗜中性粒细胞和巨噬细胞）上存在的 Fc 受体 (FcR) 上的分泌型 Ig 使得这些细胞毒性效应细胞能够特异性结合携带抗原的靶细胞，随后用细胞毒素杀死靶细胞的细胞毒性形式。该抗体“武装”(arm) 细胞毒性细胞，而且是此类杀伤作用绝对要求的。介导 ADCC 的主要细胞，NK 细胞，只表达 FcγRIII，而单核细胞表达 FcγRI、FcγRII 和 FcγRIII。Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-92(1991) 第 464 页表 3 总结了造血细胞上的 FcR 表达。为了评估目的分子的 ADCC 活性，可进行体外 ADCC 测定法，诸如美国专利 No. 5,500,362 或 5,821,337 中所记载的。可用于此类测定法的效应细胞包括外周血单个核细胞 (PBMC) 和天然杀伤 (NK) 细胞。或者 / 另外，可在体内评估目的分子的 ADCC 活性，例如在动物模型中，诸如 Clynes et al., (USA)95:652-656(1998) 中所披露的。

[0506] “Fc 受体”或“FcR”描述能结合抗体 Fc 区的受体。优选的 FcR 是天然序列人 FcR。此外，优选的 FcR 是能结合 IgG 抗体的 FcR(γ 受体），包括 FcγRI、FcγRII 和 FcγRIII 亚类的受体，包括这些受体的各等位变体和各可变剪接形式。FcγRII 受体包括 FcγRIIA(“活化受体”）和 FcγRIIB(“抑制受体”），它们具有相似的氨基酸序列，区别主要在于其胞质结构域。活化受体 FcγRIIA 在其胞质结构域中包含免疫受体基于

酪氨酸的活化基序 (ITAM)。抑制受体 Fc γ RIIB 在其胞质结构域中包含免疫受体基于酪氨酸的抑制基序 (ITIM)(参见综述 Daëron ,Annu. Rev. Immunol. 15:203-234(1997))。FcR 的综述参见 Ravetch and Kinet,Annu. Rev. Immunol. 9:457-492(1991) ; Capel et al.,Immunomethods4:25-34(1994) ; 及 de Haas et al.,J. Lab. Clin. Med. 126:330-41(1995)。术语“FcR”在本文中涵盖其它 FcR,包括那些未来将会鉴定的。该术语还包括新生儿受体,FcRn,其负责将母体 IgG 转移给胎儿 (Guyer et al.,J. Immunol. 117:587(1976) 及 Kim et al.,J. Immunol. 24:249(1994))。

[0507] 可测定人 FcRn 高亲和力结合多肽与人 FcRn 的体内结合和血清半衰期,例如在表达人 FcRn 的转基因小鼠或经转染的人细胞系中,或者在施用了具有变异 Fc 区的多肽的灵长类动物中。WO 00/42072(Presta) 记载了对 FcR 的结合提高或降低的抗体变体。还可参见 Shields et al.,J. Biol. Chem. 9(2):6591-6604(2001)。

[0508] “人效应细胞”指表达一种或多种 FcR 并行使效应器功能的白细胞。优选的是,该细胞至少表达 Fc γ RIII 并行使 ADCC 效应器功能。介导 ADCC 的人白细胞的例子包括外周血单个核细胞 (PBMC)、天然杀伤 (NK) 细胞、单核细胞、细胞毒性 T 细胞和嗜中性粒细胞,优选 PBMC 和 NK 细胞。效应细胞可以从其天然来源分离,例如血液。

[0509] “补体依赖性细胞毒性”或“CDC”指存在补体时对靶细胞的溶解。经典补体途径的激活是由补体系统第一组分 (C1q) 结合抗体 (适宜亚类的) 起始的,该抗体已结合至其关联抗原。为了评估补体激活,可进行 CDC 测定法,例如如 Gazzano-Santoro et al.,J. Immunol. Methods 202:163(1996) 中所记载的。具有更改的 Fc 区氨基酸序列 (具有变异 Fc 区的多肽) 及提高或降低的 C1q 结合能力的多肽变体记载于例如美国专利 No. 6,194,551B1 和 WO 1999/51642。还可参见例如 Idusogie et al.,J. Immunol. 164:4178-4184(2000)。

[0510] “含 Fc 区的抗体”指包含 Fc 区的抗体。Fc 区的 C- 末端赖氨酸 (依照 EU 编号系统的残基 447) 可以消除,例如在纯化抗体的过程中或者通过重组改造编码抗体的核酸。因此,依照本发明包含具有 Fc 区的抗体的组合物可包含具有 K447 的抗体、消除了所有 K447 的抗体或具有与没有 K447 残基的抗体的混合物。

[0511] CD79b 多肽“胞外结构域”或“ECD”指 CD79b 多肽基本上不含跨膜结构域和胞质结构域的形式。通常,CD79b 多肽 ECD 具有少于 1%的此类跨膜结构域和 / 或胞质结构域,优选具有少于 0.5%的此类结构域。可以理解,为本发明 CD79b 多肽鉴定的任何跨膜结构域是依照本领域常规用于鉴定该种类型疏水结构域的标准鉴定的。跨膜结构域的精确边界可以变化,但最有可能的是本文中最初鉴定的结构域任一末端不超过约 5 个氨基酸。因此,任选的是,CD79b 多肽的胞外结构域可包含实施例或说明书中所鉴定的跨膜结构域 / 胞外结构域边界任一侧的约 5 个或 5 个以下的氨基酸,而且本发明设想了具有或没有相关信号肽的此类多肽及编码它们的核酸。

[0512] 本说明书和 / 或附图中可能显示了本文中所公开的各种 CD79b 多肽的“信号肽”的大致位置。然而,应当注意,信号肽的 C- 末端边界可以变化,但最有可能的是本文中最初鉴定的信号肽 C- 末端边界任一侧不超过约 5 个氨基酸,其中信号肽的 C- 末端边界可依照本领域常规用于鉴定该种类型氨基酸序列元件的标准来鉴定 (例如 Nielsen et al.,Prot. Eng. 10:1-6(1997) 和 von Heinje et al.,Nucl. Acids. Res. 14:4683-4690(1986))。此外,还认识到,在有些情况中,从分泌多肽上切除信号序列不是完全统一的,导致超过一种分泌

种类。本发明设想了这些成熟多肽，其中信号肽在本文中所鉴定的信号肽 C- 末端边界任一侧不超过约 5 个氨基酸内切除，及编码它们的多核苷酸。

[0513] “CD79b 多肽变体”意指与本文中所公开的全长天然序列 CD79b 多肽序列、本文中所公开的缺少信号肽的 CD79b 多肽序列、本文中所公开的具有或没有信号肽的 CD79b 多肽胞外结构域或本文中所公开的全长 CD79b 多肽序列的任何其它片段（诸如那些由只代表全长 CD79b 多肽完整编码序列的一部分的核酸编码的）具有至少约 80％氨基酸序列同一性的 CD79b 多肽，优选本文中所定义的活性 CD79b 多肽。此类 CD79b 多肽变体包括例如在全长天然氨基酸序列的 N- 或 C- 末端添加或删除一个或多个氨基酸残基的 CD79b 多肽。通常，CD79b 多肽变体与本文中所公开的全长天然序列 CD79b 多肽序列、本文中所公开的缺少信号肽的 CD79b 多肽序列、本文中所公开的具有或没有信号肽的 CD79b 多肽胞外结构域或本文中所公开的全长 CD79b 多肽序列的任何其它明确限定的片段具有至少约 80％的氨基酸序列同一性，或者至少约 81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或 99％的氨基酸序列同一性。通常，CD79b 变异多肽的长度为至少约 10 个氨基酸，或者长度为至少约 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 个氨基酸，或更多。任选的是，CD79b 变异多肽与天然 CD79b 多肽序列相比具有不超过一处保守氨基酸替代，或者与天然 CD79b 多肽序列相比具有不超过 2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 处保守氨基酸替代。

[0514] 关于肽或多肽序列（即本文中所鉴定的 CD79b 多肽序列）的“百分比（％）氨基酸序列同一性”定义为对比序列并在必要时引入缺口以获取最大百分比序列同一性后，且不将任何保守替代视为序列同一性的一部分时，候选序列中与特定肽或多肽序列（即 CD79b 多肽序列）中的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分率。为测定百分比氨基酸序列同一性目的的对比可以本领域技术范围内的多种方式进行，例如使用公众可得到的计算机软件，诸如 BLAST、BLAST-2、ALIGN 或 Megalign(DNASTAR) 软件。本领域技术人员可决定用于测量对比的适宜参数，包括对所比较序列全长获得最大对比所需的任何算法。然而，为了本发明的目的，％氨基酸序列同一性值是使用序列比较计算机程序 ALIGN-2 获得的，其中下文表 1 中提供了 ALIGN-2 程序的完整源代码。ALIGN-2 序列比较计算机程序由 Genentech 公司编写，下文表 1 所示源代码已经连同用户文档一起提交给美国版权局 (US Copyright Office,Washington D.C.,20559)，并以美国版权注册号 TXU510087 注册。公众可通过 Genentech 公司 (South San Francisco,California) 得到 ALIGN-2 程序，或者可从下文表 1 中提供的源代码编译。ALIGN2 程序应当编译成在 UNIX 操作系统，优选数码 UNIX V4.0D 上使用。所有序列比较参数由 ALIGN-2 程序设定且不变。

[0515] 在采用 ALIGN-2 来比较氨基酸序列的情况中，给定氨基酸序列 A 相对于 (to)、与 (with) 或针对 (against) 给定氨基酸序列 B 的％氨基酸序列同一性（或者可表述为具有或包含相对于、与或针对给定氨基酸序列 B 的某一％氨基酸序列同一性的给定氨基酸序列 A）如下计算：

[0516] 分数 X/Y 乘 100

[0517] 其中 X 是由序列对比程序 ALIGN-2 在该程序的 A 和 B 对比中评分为相同匹配的氨

基酸残基数，且其中 Y 是 B 中的氨基酸残基总数。可以领会，若氨基酸序列 A 的长度与氨基酸序列 B 的长度不相等，则 A 相对于 B 的％氨基酸序列同一性将不等于 B 相对于 A 的％氨基酸序列同一性。

[0518] “CD79b 变异多核苷酸”或“CD79b 变异核酸”意指与编码本文中所公开的全长天然序列 CD79b 多肽序列、本文中所公开的缺少信号肽的全长多肽序列 CD79b 多肽序列、本文中所公开的具有或没有信号肽的 CD79b 多肽胞外结构域或本文中所公开的全长 CD79b 多肽序列的任何其它片段（诸如那些由只代表全长 CD79b 多肽完整编码序列的一部分的核酸编码的）具有至少约 80％核酸序列同一性的编码 CD79b 多肽（优选本文中所定义的活性 CD79b 多肽）的核酸。通常，CD79b 变异多核苷酸与编码本文中所公开的全长天然序列 CD79b 多肽序列、本文中所公开的缺少信号肽的全长天然 CD79b 多肽序列、本文中所公开的具有或没有信号序列的 CD79b 多肽胞外结构域或本文中所公开的全长 CD79b 多肽序列的任何其它片段的核酸序列具有至少约 80％的核酸序列同一性，或者至少约 81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或 99％的核酸序列同一性。变体不涵盖天然核苷酸序列。

[0519] 通常，CD79b 变异多核苷酸的长度为至少约 5 个核苷酸，或者长度为至少约 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 个核苷酸，其中在此语境中，术语“约”意指所述核苷酸序列长度加上或减去该所述长度的 10％。

[0520] 关于本文中所鉴定的 CD79b 编码核酸序列的“百分比（％）核酸序列同一性”定义为对比序列并在必要时引入缺口以获取最大百分比序列同一性后，候选序列中与感兴趣 CD79b 核酸序列中的核苷酸相同的核苷酸的百分率。为测定百分比核酸序列同一性目的的序列对比可以本领域技术范围内的多种方式进行，例如使用公众可得到的计算机软件，诸如 BLAST、BLAST-2、ALIGN 或 Megalign(DNASTAR) 软件。然而，为了本发明的目的，％核酸序列同一性值是使用序列比较计算机程序 ALIGN-2 获得的，其中下文表 1 中提供了 ALIGN-2 程序的完整源代码。ALIGN-2 序列比较计算机程序由 Genentech 公司编写，下文表 1 所示源代码已经连同用户文档一起提交给美国版权局 (US Copyright Office,Washington D.C.,20559)，并以美国版权注册号 TXU510087 注册。公众可通过 Genentech 公司 (South San Francisco,California) 得到 ALIGN-2 程序，或者可从下文表 1 中提供的源代码编译。ALIGN2 程序应当编译成在 UNIX 操作系统，优选数码 UNIX V4.0D 上使用。所有序列比较参数由 ALIGN-2 程序设定且不变。

[0521] 在采用 ALIGN-2 来比较核酸序列的情况中，给定核酸序列 C 相对于 (to)、与 (with) 或针对 (against) 给定氨基酸序列 D 的％核酸序列同一性（或者可表述为具有或包含相对于、与或针对给定核酸序列 D 的某一％核酸序列同一性的给定核酸序列 C）如下计算：

[0522] 分数 W/Z 乘 100

[0523] 其中 W 是由序列对比程序 ALIGN-2 在该程序的 C 和 D 对比中评分为相同匹配的核苷酸数，且其中 Z 是 D 中的核苷酸总数。可以领会，若核酸序列 C 的长度与核酸序列 D 的长度不相等，则 C 相对于 D 的％核酸序列同一性将不等于 D 相对于 C 的％核酸序列同一性。除非另有具体说明，本文中所使用的所有％核酸序列同一性值都是依照上一段所述，使用 ALIGN-2 计算机程序获得的。

[0524] 在其它实施方案中，CD79b 变异多核苷酸是编码 CD79b 多肽且能够与本文中所公开的编码全长 CD79b 多肽的核苷酸序列杂交，优选在严格杂交和洗涤条件下杂交的核酸分子。CD79b 变异多肽可以是那些由 CD79b 变异多核苷酸编码的。

[0525] 术语“全长编码区”在述及编码 CD79b 多肽的核酸使用时指编码本发明全长 CD79b 多肽的核苷酸序列（常常在附图中起始和终止密码子（含）之间显示）。术语“全长编码区”在述及 ATCC 保藏核酸使用时指插入保藏在 ATCC 的载体中的 cDNA 的 CD79b 多肽编码部分（常常在附图中起始和终止密码子（含）之间显示，起始和终止密码子在图中以粗体显示且划有下划线）。

[0526] “分离的”，在用于描述本文中所公开的各种 CD79b 多肽时，意指已经鉴定且与 / 由其天然环境的成分分开和 / 或回收的多肽。多肽的天然环境的污染性成分指通常会干扰其治疗用途的物质，可包括酶、激素和其它蛋白质性质或非蛋白质性质的溶质。在优选的实施方案中，将多肽纯化至 (1) 足以通过使用转杯式测序仪获得至少 15 个残基的 N- 末端或内部氨基酸序列的程度，或 (2) 根据使用考马斯蓝或优选银染色的非还原性或还原性条件下的 SDS-PAGE，达到同质。既然 CD79b 多肽的天然环境的至少一种成分不会存在，那么分离的多肽包括重组细胞内的原位多肽。然而，分离的多肽通常通过至少一个纯化步骤来制备。

[0527] “分离的”CD79b 多肽编码核酸或其它多肽编码核酸指已经鉴定且与多肽编码核酸的天然来源中通常与之关联的至少一种污染性核酸分子分开的核酸分子。分离的多肽编码核酸分子不同于在自然界中发现它时的形式或背景。分离的多肽编码核酸分子因此与存在于天然细胞中时的特定多肽编码核酸分子有区别。然而，分离的多肽编码核酸分子包括通常表达该多肽的细胞中所包含的多肽编码核酸分子，例如当所述核酸分子在所述细胞中的染色体定位不同于它在天然细胞中的染色体定位时。

[0528] 术语“控制序列”指在特定宿主生物体中表达可操作连接的编码序列所必需的 DNA 序列。例如，适于原核生物的控制序列包括启动子、任选的操纵基因序列和核糖体结合位点。已知真核细胞利用启动子、多腺苷酸化信号和增强子。

[0529] 若一段核酸与另一段核酸序列处于功能性相互关系中，则它是“可操作连接的”。例如，若前序列 (presequence) 或分泌前导 (secretory leader) 的 DNA 表达成参与多肽分泌的前蛋白质 (preprotein)，则它与该多肽的 DNA 可操作连接；若启动子或增强子影响编码序列的转录，则它与该序列可操作连接；或者，若核糖体结合位点的位置促进翻译，则它与编码序列可操作连接。一般而言，“可操作连接的”意味着相连的 DNA 序列是相邻的，而且在分泌前导的情况中意味着相邻且处于阅读状态。然而，增强子不必相邻。连接可以通过在方便的限制性位点处的连接来实现。若没有此类位点，则依照常规实践使用合成的寡核苷酸衔接头或接头。

[0530] 杂交反应的“严格性”容易为本领域普通技术人员所确定，并且通常取决于探针长

度、洗涤温度和盐浓度凭经验计算。一般而言，较长的探针需要较高的温度用于正确的退火，而较短的探针则需要较低的温度。当互补链存在于低于它们解链温度的环境中时，杂交通常取决于变性 DNA 重新退火的能力。探针和能杂交的序列之间的期望同源性程度越高，就可使用越高的相对温度。作为结果，推出，更高的相对温度趋向于使反应条件更加严格，而更低的温度则更不严格。对于杂交反应的严格性的补充细节及解释参见 Ausubel 等的《Current Protocols in Molecular Biology》,Wiley Interscience Publishers,(1995)。

[0531] 如本文中所定义的，“严格条件”或“高严格条件”可以定义如下：(1) 对于洗涤使用低离子强度和高温，例如 0.015M 氯化钠 /0.0015M 柠檬酸钠 /0.1％十二烷基硫酸钠，50℃；(2) 在杂交期间使用变性剂，诸如甲酰胺，例如，50％ (v/v) 甲酰胺及 0.1％牛血清清蛋白 /0.1％ Ficoll/0.1％聚乙烯吡咯烷酮 / 具有 750mM 氯化钠，75mM 柠檬酸钠的 50mM 磷酸钠缓冲液 pH 6.5，42℃，或 (3) 在使用 50％甲酰胺，5x SSC(0.75M NaCl,0.075M 柠檬酸钠)，50mM 磷酸钠 (pH6.8)，0.1％焦磷酸钠，5x Denhardt 氏溶液，超声处理的鲑精 DNA(50μg/ml)，0.1％ SDS 和 10％硫酸右旋糖苷的溶液中于 42℃杂交过夜，于 42℃在 0.2x SSC(氯化钠 / 柠檬酸钠) 中洗涤 10 分钟，接着是于 55℃由含有 EDTA 的 0.1x SSC 组成的 10 分钟高严格洗涤。

[0532] “中等严格条件”可规定为如 Sambrook 等的《Molecular Cloning:A Laboratory Manual》(New York:Cold Spring Harbor Press,1989) 所描述的，而且包括使用与上文所述那些相比较不严格的洗涤溶液和杂交条件 (例如温度、离子强度和％ SDS)。中等严格条件的一个例子是在含：20％甲酰胺、5x SSC(150mM NaCl,15mM 柠檬酸三钠)、50mM 磷酸钠 (pH7.6)、5xDenhardt 氏溶液、10％硫酸右旋糖苷和 20mg/ml 变性的剪切的鲑精 DNA 的溶液中于 37℃温育过夜，然后于约 37-50℃在 1x SSC 中洗涤滤膜。本领域熟练技术人员应当认识到如何根据适应诸如探针长度等因素的需要来调节温度、离子强度等。

[0533] 术语“表位标记的”在用于本文时指包含 CD79b 多肽或抗 CD79b 抗体且其与“标签多肽”融合的嵌合多肽。标签多肽具有足够残基以提供表位而可制备针对其的抗体，但又足够短使得其不干扰与其融合的多肽的活性。标签多肽优选还是相当独特的，使得其抗体基本上不与其它表位发生交叉反应。合适的标签多肽通常具有至少 6 个氨基酸残基，通常在约 8 个和约 50 个氨基酸残基之间 (优选在约 10 个和约 20 个氨基酸残基之间)。

[0534] “有活性的”或“活性”为了本发明的目的指 CD79b 多肽保留天然或天然存在 CD79b 的生物学和 / 或免疫学活性的形式，其中“生物学”活性指由天然或天然存在 CD79b 引起的，除诱导针对天然或天然存在 CD79b 所拥有的抗原性表位的抗体生成的能力外的生物学功能 (或是抑制性的或是刺激性的)，而“免疫学”活性指诱导针对天然或天然存在 CD79b 所拥有的抗原性表位的抗体生成的能力。

[0535] 术语“拮抗剂”以最广义使用，包括部分或完全阻断、抑制或中和天然 CD79b 多肽的生物学活性的任何分子。类似的，术语“激动剂”以最广义使用，包括模拟天然 CD79b 多肽的生物学活性的任何分子。合适的激动剂或拮抗剂明确包括激动性或拮抗性抗体或抗体片段、天然 CD79b 多肽的片段或氨基酸序列变体、肽、反义寡核苷酸、有机小分子、等。用于鉴定 CD79b 多肽的激动剂或拮抗剂的方法可包括使 CD79b 多肽接触候选激动剂或拮抗剂分子，并测量通常与 CD79b 多肽有关的一种或多种生物学活性中的可检测变化。

[0536] “纯化的”意味着分子以至少 95％ (以重量计) 或至少 98％ (以包含它的样品的

重量计）的浓度存在于样品中。

[0537] “分离的”核酸分子指与例如该核酸分子的天然来源中通常与之关联的至少一种其它核酸分子分开的核酸分子。分离的核酸分子进一步包括包含在通常表达该核酸分子的细胞中的核酸分子，但是所述核酸分子是以染色体外形式存在的或在染色体上的定位不同于它其天然染色体定位。

[0538] 术语“载体”在用于本文时意指能够运输与其连接的其它核酸的核酸分子。一类载体是“质粒”，指其中可连接另外的 DNA 区段的环状双链 DNA 环。另一类载体是噬菌体载体。另一类载体是病毒载体，其中可将另外的 DNA 区段连接到病毒基因组中。某些载体能够在其所导入的宿主细胞中自主复制（例如具有细菌复制起点的细菌载体和附加型哺乳动物载体）。其它载体（例如非附加型哺乳动物载体）可在导入宿主细胞后整合到宿主细胞的基因组中，由此随着宿主基因组一起复制。此外，某些载体能够指导与其可操作连接的基因表达。此类载体在本文中称为“重组表达载体”（或简称为“重组载体”）。通常，在重组 DNA 技术中有用的表达载体常常是质粒形式。在本说明书中，“质粒”和“载体”可互换使用，因为质粒是载体的最常用形式。

[0539] “多核苷酸”或“核酸”在本文中可互换使用，指任何长度的核苷酸聚合物，包括 DNA 和 RNA。核苷酸可以是脱氧核糖核苷酸、核糖核苷酸、经过修饰的核苷酸或碱基和 / 或其类似物，或者是可通过 DNA 或 RNA 聚合酶或者通过合成反应掺入聚合物的任何底物。多核苷酸可包含经过修饰的核苷酸，诸如甲基化核苷酸及其类似物。如果有的话，对核苷酸结构的修饰可以在装配聚合物之前或之后进行。核苷酸序列可以由非核苷酸组分中断。多核苷酸可以在合成后进一步修饰，诸如通过与标记物偶联。其它类型的修饰包括例如“帽”，将一个或多个天然存在的核苷酸用类似物替代，核苷酸间修饰诸如例如具有不带电荷连接（例如膦酸甲酯、磷酸三酯、磷酰胺酯 (phosphoamidate)、氨基甲酸酯等）和具有带电荷连接（例如硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯等）的修饰，含有悬垂模块 (pendant moiety) 诸如例如蛋白质（例如核酸酶、毒素、抗体、信号肽、聚 L- 赖氨酸等）的修饰、具有嵌入剂（例如吖啶、补骨脂素等）的修饰、含有螯合剂（例如金属、放射性金属、硼、氧化性金属等）的修饰、含有烷化剂的修饰、具有经修饰连接（例如 α 端基异构核酸 (anomeric nucleic acid) 等）的修饰、以及未修饰形式的多核苷酸。另外，通常存在于糖类中的任何羟基可以用例如膦酸 (phosphonate) 基团、磷酸 (phosphate) 基团替换，用标准保护基团保护，或活化以制备与别的核苷酸的别的连接，或者可偶联至固体或半固体支持物。5’ 和 3’ 末端 OH 可磷酸化或者用胺或 1-20 个碳原子的有机加帽基团模块取代。其它羟基也可衍生成标准保护基团。多核苷酸还可含有本领域普遍知道的核糖或脱氧核糖糖类的类似物形式，包括例如 2’- 氧 - 甲基、2’- 氧 - 烯丙基、2’- 氟 - 或 2’- 叠氮 - 核糖，碳环糖类似物，α - 端基异构糖，差向异构糖诸如阿拉伯糖、木糖或来苏糖、吡喃糖、呋喃糖、景天庚酮糖，无环类似物及脱碱基核苷类似物诸如甲基核糖核苷。可用备选接头团替换一个或多个磷酸二酯连接。这些备选接头团包括但不限于以下实施方案，其中磷酸酯用 P(O)S（“硫代酸酯”(thioate)）、P(S)S（“二硫代酸酯”(dithioate)）、(O)NR_2（“酰胺酯”(amidate)）、P(O)R、P(O)OR’、CO 或 CH_2（“甲缩醛”(formacetal)）替代，其中 R 或 R’ 各自独立为 H 或者取代或未取代的烷基 (1-20 个 C)，任选含有醚 (-O-) 连接、芳基、烯基、环烷基、环烯基或芳烷基 (araldyl)。并非多核苷酸中的所有连接都必需是相同的。前述描述适用于本文中提及的所有多核苷酸，包括 RNA 和

DNA。

[0540] “寡核苷酸”在用于本文时一般指短的多核苷酸，一般是单链，一般是合成的，长度一般但不是必需小于约 200 个核苷酸。术语“寡核苷酸”与“多核苷酸”并不互相排斥。上文关于多核苷酸的描述平等且完全适用于寡核苷酸。

[0541] 术语“癌症”和“癌性”指或描述哺乳动物中特征通常为细胞生长不受调节的生理疾患。癌症的例子包括但不限于造血癌症或血液相关癌症，诸如淋巴瘤、白血病、骨髓瘤或淋巴样恶性肿瘤，但是还有脾的癌症和淋巴结的癌症，而且还有癌瘤 (carcinoma)、母细胞瘤 (blastoma) 和肉瘤 (sarcoma)。癌症的更具体例子包括 B 细胞相关癌症，包括例如高级、中级和低级淋巴瘤 (包括 B 细胞淋巴瘤，诸如例如粘膜相关淋巴样组织 B 细胞淋巴瘤和非何杰金氏淋巴瘤 (NHL)、套细胞淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤 (Burkitt’s lymphoma)、小淋巴细胞性淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、弥漫性大细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤和何杰金氏淋巴瘤及 T 细胞淋巴瘤) 和白血病 (包括继发性白血病、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL) 诸如 B 细胞白血病 (CD5+B 淋巴细胞)、髓细胞性白血病诸如急性髓细胞样白血病、慢性髓细胞样白血病、淋巴样白血病诸如急性成淋巴细胞性白血病 (ALL) 和脊髓发育不良) 和其它血液学和 / 或 B 细胞或 T 细胞相关癌症。还包括别的造血细胞的癌症，包括多形核白细胞，诸如嗜碱性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜中性粒细胞和单核细胞、树突细胞、血小板、红细胞和天然杀伤细胞。还包括选自下组的癌性 B 细胞增殖性病症 :淋巴瘤 (lymphoma)、非何杰金氏淋巴瘤 (non-Hodgkins lymphoma)(NHL)、攻击性 NHL(aggressive NHL)、复发性攻击性 NHL(relapsed aggressive NHL)、复发性无痛性 NHL(relapsed indolent NHL)、顽固性 NHL(refractory NHL)、顽固性无痛性 NHL(refractory indolent NHL)、慢性淋巴细胞性白血病 (refractory indolent NHL)(CLL)、小淋巴细胞淋巴瘤 (small lymphocytic lymphoma)、白血病 (leukemia)、毛细胞白血病 (hairy cell leukemia)(HCL)、急性淋巴细胞性白血病 (acute lymphocytic leukemia)(ALL) 和套细胞淋巴瘤 (mantle cell lymphoma)。B 细胞癌症的起源包括如下 :边缘区 B 细胞淋巴瘤源自边缘区中的记忆 B 细胞，滤泡性淋巴瘤和弥漫性大 B 细胞淋巴瘤源自生发中心的亮区 (light zone) 中的中央细胞 (centrocyte)，慢性淋巴细胞性白血病和小淋巴细胞性白血病源自 B1 细胞 (CD5+)，套细胞淋巴瘤源自外套层 (mantle zone) 中的幼稚 B 细胞 (naïve B cell)，而伯基特氏淋巴瘤 (Burkitt’s lymphoma) 源自生发中心的暗区 (dark zone) 中的成中央细胞 (centroblast)。包括本文中称作“造血细胞组织”的造血细胞的组织包括胸腺和骨髓及外周淋巴样组织，诸如脾、淋巴结、与粘膜有关的淋巴样组织，诸如肠相关淋巴样组织、扁桃体、派伊尔氏斑及与其它粘膜有关的附件 (appendix) 和淋巴样组织，例如支气管内衬 (lining)。此类癌症的其它具体例子包括括鳞状细胞癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肺的腺癌、肺的鳞癌、腹膜癌、肝细胞癌、胃肠癌、胰腺癌、胶质瘤、宫颈癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、肝肉瘤 (hepatoma)、乳腺癌、结肠癌、结肠直肠癌、子宫内膜癌或子宫癌、唾液腺癌、肾癌、肝癌、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、肝癌、白血病和其它淋巴增生性病症、及各种类型的头和颈癌。

[0542] “B 细胞恶性肿瘤”在本文中包括非何杰金氏淋巴瘤 (NHL)，其包括低级 / 滤泡性 NHL、小淋巴细胞性 (SL)NHL、中级 / 滤泡性 NHL、中级弥漫性 NHL、高级成免疫细胞性 NHL、高级成淋巴细胞性 NHL、高级小无核裂细胞 NHL、大块病 NHL、套细胞淋巴瘤、AIDS 相关淋巴瘤

和瓦尔登斯特伦氏巨球蛋白血症 (Waldenstrom's Macroglobulinemia)、非何杰金氏淋巴瘤 (NHL)、淋巴细胞为主型的何杰金氏病 (LPHD)、小淋巴细胞性淋巴瘤 (SLL)、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)、无痛性 NHL(包括复发性无痛性 NHL 和利妥昔单抗不应性无痛性 NHL) ;白血病,其包括急性成淋巴细胞性白血病 (ALL)、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)、毛细胞白血病、慢性成髓细胞性白血病 ;套细胞淋巴瘤 ;和其它血液学恶性肿瘤。此类恶性肿瘤可以用针对 B 细胞表面标志物 (诸如 CD79b) 的抗体来治疗。此类疾病涵盖在本文中,以通过施用针对 B 细胞表面标志物 (诸如 CD79b) 的抗体来治疗,包括施用未偶联的抗体 ("裸抗体") 或偶联有细胞毒剂的抗体,正如本文中所公开的。此类疾病还涵盖在本文中,以通过包括本发明的抗 CD79b 抗体或抗 CD79b 抗体药物偶联物联合另一抗体或抗体药物偶联物、另一细胞毒剂、放射或其它治疗的联合疗法 (同时施用或顺次施用) 来治疗。在本发明的例示性治疗方法中,联合施用本发明的抗 CD79b 抗体及抗 CD20 抗体、免疫球蛋白或其 CD20 结合片段,或是一起施用或是顺次施用。所述抗 CD20 抗体可以是裸抗体或抗体药物偶联物。在联合疗法的一个实施方案中,所述抗 CD79b 抗体是本发明的抗体,而所述抗 CD20 抗体是 Rituxan® (利妥昔单抗,即 rituximab)。

[0543] 术语"非何杰金氏 (Hodgkin) 淋巴瘤"或"NHL"在用于本文时指何杰金氏淋巴瘤以外的淋巴系统癌症。通常可通过何杰金氏淋巴瘤中存在里 - 施 (Reed-Sternberg) 细胞而非何杰金氏淋巴瘤中不存在所述细胞将何杰金氏淋巴瘤与非何杰金氏淋巴瘤区分开来。非何杰金氏淋巴瘤在该术语用于本文时所涵盖的例子包括本领域技术人员 (例如肿瘤学家或病理学家) 依照本领域已知的分类表将鉴定为此类的任何淋巴瘤,诸如 Color Atlas of Clinical Hematology, 第 3 版 , Victor A. Hoffbrand 和 John E. Pettit 编 , Harcourt Publishers Ltd., 2000 中记载的 Revised European-American Lymphoma (REAL) scheme (欧美淋巴瘤修正表)。具体参见图 11.57、11.58 和 11.59 中的表。更具体例子包括但不限于复发性或顽固性 NHL、前线 (front line) 低级 NHL、阶段 III/IV NHL、化疗耐受性 NHL、前体 B 成淋巴细胞性白血病和 / 或淋巴瘤、小淋巴细胞性淋巴瘤、B 细胞慢性淋巴细胞性白血病和 / 或前淋巴细胞性白血病和 / 或小淋巴细胞性淋巴瘤、B 细胞前淋巴细胞性淋巴瘤、免疫细胞瘤和 / 或淋巴浆细胞性 (lymphoplasmacytic) 淋巴瘤、淋巴浆细胞性淋巴瘤、边缘区 B 细胞淋巴瘤、脾边缘区淋巴瘤、节外边缘区 (extranodal marginal zone)-MALT 淋巴瘤、节边缘区 (nodal marginal zone) 淋巴瘤、毛细胞性白血病、浆细胞瘤和 / 或浆细胞骨髓瘤、低级 / 滤泡淋巴瘤、中级 / 滤泡 NHL、套细胞淋巴瘤、滤泡中心淋巴瘤 (滤泡的)、中级弥漫性 NHL、弥漫性大 B 细胞淋巴瘤、攻击性 (agressive) NHL(包括攻击性前线 NHL 和攻击性复发性 NHL)、自体干细胞移植后复发性或顽固性 NHL、原发性纵隔大 B 细胞淋巴瘤、原发性渗出性淋巴瘤、高级成免疫细胞 NHL、高级成淋巴细胞 NHL、高级小无核裂细胞 NHL、贮积病 (bulky disease) NHL、伯基特氏 (Burkitt) 淋巴瘤、前体 (外周) 大粒状淋巴细胞白血病、蕈样肉芽肿病和 / 或塞扎里 (Sezary) 综合征、皮肤淋巴瘤、间变性大细胞淋巴瘤、血管中心性淋巴瘤。

[0544] "病症"指任何会受益于使用本发明物质 / 分子或方法的治疗的疾患。这包括慢性和急性病症或疾病,包括那些使哺乳动物倾向于所讨论病症的病理状况。本文中待治疗的病症的非限制性例子包括癌性疾患,诸如恶性和良性肿瘤 ;非白血病和淋巴样恶性肿瘤 ;神经元、神经胶质、星形胶质细胞、下丘脑和其它腺体、巨噬细胞、上皮、基质 / 间质和囊胚

腔病症；及炎性、免疫学和其它血管发生相关病症。病症进一步包括癌性疾患，诸如 B 细胞增殖性病症和 / 或 B 细胞肿瘤，例如淋巴瘤、非何杰金氏淋巴瘤 (NHL)、攻击性 NHL、复发性攻击性 NHL、复发性无痛性 NHL、顽固性 NHL、顽固性无痛性 NHL、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)、小淋巴细胞性淋巴瘤、白血病、毛细胞白血病 (HCL)、急性淋巴细胞性白血病 (ALL) 和套细胞淋巴瘤。

[0545] 术语“细胞增殖性病症”和“增殖性病症”指与一定程度的异常细胞增殖有关的病症。在一个实施方案中，细胞增殖性病症指癌症。

[0546] “肿瘤”在用于本文时指所有赘生性 (neoplastic) 细胞生长和增殖，无论是恶性的还是良性的，及所有癌前 (pre-cancerous) 和癌性细胞和组织。

[0547] “自身免疫病”在本文中指源于且针对个体自身组织或器官的疾病或紊乱或其共分离 (co-segregate) 或表现或由其导致的状况。在这些自身免疫病和炎症紊乱的许多中，可以存在许多临床和实验室标志，包括但不限于：高丙种球蛋白血症、高水平自身抗体、组织中抗原 - 抗体复合物沉积、得益于皮质类固醇或免疫抑制治疗、及受侵害组织中的淋巴样细胞集合体。不限于任意一种有关 B 细胞介导的自身免疫病的理论，认为 B 细胞通过众多机械途径在人自身免疫病中表现出致病作用，包括自身抗体产生、免疫复合物形成、树突细胞和 T 细胞活化、细胞因子合成、直接趋化因子释放和提供用于异位新淋巴生成的巢。这些途径中的每一种可以以不同程度参与自身免疫病的病理学。

[0548] 自身免疫病可以为器官特异性疾病（即免疫应答特异性针对一种器官系统，诸如内分泌系统、造血系统、皮肤、心肺系统、胃肠和肝系统、肾系统、甲状腺、耳、神经肌肉系统、中枢神经系统等）或可以影响多器官系统的系统性疾病（例如系统性红斑狼疮 (SLE)、类风湿性关节炎、多肌炎等）。优选的此类疾病包括自身免疫性风湿病学病症（诸如例如类风湿性关节炎、斯耶格伦氏综合征（Sjögren's syndrome)、硬皮病、狼疮（诸如 SLE 和狼疮肾炎）、多肌炎 / 皮肌炎、冷球蛋白血症、抗磷脂抗体综合征和银屑病关节炎）、自身免疫性胃肠和肝病症（诸如例如炎性肠病（例如溃疡性结肠炎和克罗恩氏病 (Crohn's disease))、自身免疫性胃炎和恶性贫血、自身免疫性肝炎、原发性胆汁性肝硬化、原发性硬化性胆管炎和乳糜泻）、血管炎（诸如例如 ANCA 阴性血管炎和 ANCA 相关血管炎，包括丘施二氏血管炎 (Churg-Strauss vasculitis)、韦格纳氏肉芽肿病 (Wegener's granulomatosis) 和微观多脉管炎）、自身免疫性神经病学病症（诸如例如多发性氧化、视性眼阵挛肌阵挛综合征、重症肌无力、视神经脊髓炎、帕金森氏病 (Parkinson's disease)、阿耳茨海默氏病 (Alzheimer's disease) 和自身免疫性多神经病）、肾病症（诸如例如肾小球肾炎、古德帕斯丘氏综合征 (Goodpasture's syndrome) 和贝格尔氏病 (Berger's disease))、自身免疫性皮肤病学病症（诸如例如银屑病、荨麻疹、hives、寻常型天疱疮、大疱性类天疱疮、和皮肤红斑狼疮）、血液学病症（诸如例如血小板减少性紫癜、血栓性血小板减少性紫癜、输血后紫癜和自身免疫性溶血性贫血）、动脉粥样硬化、葡萄膜炎、自身免疫性听觉疾病（诸如例如内耳病和听力损失）、贝切特氏病 (Behcet's disease)、雷诺氏综合征 (Raynaud's syndrome)、器官移植和自身免疫性内分泌病症（诸如例如糖尿病相关自身免疫病诸如胰岛素依赖性糖尿病 (IDDM)、阿狄森氏病 (Addison's disease) 和自身免疫性甲状腺病（例如格雷夫斯氏病 (Graves'disease) 和甲状腺炎））。更优选的此类疾病包括例如类风湿性关节炎、溃疡性结肠炎、ANCA 相关血管炎、狼疮、多发性硬化、斯耶格伦氏综合征、格雷夫斯

氏病、IDDM、恶性贫血、甲状腺炎和肾小球肾炎。

[0549] 本文中所定义的其它自身免疫性疾病的具体例子（在有些情况中涵盖上文所列举的那些）包括但不限于关节炎（急性的和慢性的，类风湿性关节炎，包括幼发型类风湿性关节炎和关节炎的各个阶段诸如类风湿性滑膜炎、痛风或痛风性关节炎、急性免疫性关节炎、慢性炎性关节炎、退行性关节炎、II 型胶原诱发的关节炎、感染性关节炎、莱姆 (Lyme) 关节炎、增生性关节炎、银屑病性关节炎、斯提耳氏 (Still) 病、脊椎关节炎、骨关节炎、慢性进行性关节炎、变形性关节炎、慢性原发性多关节炎、反应性关节炎、绝经期关节炎、雌激素消减性关节炎和强直性脊柱炎 / 类风湿性脊椎炎），自身免疫性淋巴细胞增生性疾病，炎性过度增殖性皮肤病，银屑病诸如斑块状银屑病、滴状银屑病、脓疱性银屑病和指甲银屑病，特应性包括特应性疾病诸如干草热和乔布氏 (Job) 综合征，皮炎包括接触性皮炎、慢性接触性皮炎、剥脱性皮炎、变应性皮炎、变应性接触性皮炎、荨麻疹、疱疹样皮炎、钱币状皮炎、脂溢性皮炎、非特异性皮炎、原发性刺激性接触性皮炎和特应性皮炎，x 连锁的高 IgM 综合征，变应性眼内炎性疾病，荨麻疹诸如慢性变应性荨麻疹和慢性特发性荨麻疹（包括慢性自身免疫性荨麻疹），肌炎，多肌炎 / 皮肌炎，青少年型皮肌炎，中毒性表皮坏死松解症，硬皮病（包括系统性硬皮病），硬化诸如系统性硬化、多发性硬化 (MS) 诸如脊髓 - 眼 (spino-optical)MS、原发性进行性 MS(PPMS) 和复发性消退性 (relapsing remitting) MS(RRMS)、进行性系统性硬化、动脉粥样硬化、动脉硬化、播散性硬化、共济失调性 (ataxic) 硬化，视神经脊髓炎 (NMO)，炎症性肠病 (IBD)（例如克罗恩氏 (Crohn) 病、自身免疫介导的胃肠病、胃肠炎症、结肠炎诸如溃疡性结肠炎 (colitis ulcerosa)、微观结肠炎、胶原性结肠炎、息肉状结肠炎、坏死性小肠结肠炎和透壁性结肠炎和自身免疫性炎症性肠病），肠炎，坏疽性脓皮症，结节性红斑，原发性硬化性胆管炎，呼吸窘迫综合征包括成人型或急性呼吸窘迫综合征 (ARDS)，脑膜炎，整个或部分葡萄膜的炎症，虹膜炎，脉络膜炎，自身免疫性血液学病症，移植物抗宿主疾病，血管性水肿诸如遗传性血管性水肿，脑神经损伤像脑膜炎中的，妊娠疱疹，妊娠性类天疱疮，阴囊瘙癣 (pruritis scroti)，自身免疫性早熟性卵巢衰竭，因自身免疫性疾患引起的突发性听觉丧失，IgE 介导的疾病诸如过敏反应和变应性和特应性鼻炎，脑炎诸如拉斯默森氏 (Rasmussen) 脑炎和边缘系和 / 或脑干脑炎，葡萄膜炎（诸如前葡萄膜炎、急性前葡萄膜炎、肉芽肿性葡萄膜炎、非肉芽肿性葡萄膜炎、晶状体抗原性葡萄膜炎、后葡萄膜炎或自身免疫性葡萄膜炎，具有和没有肾病综合征的肾小球肾炎 (GN) 诸如慢性或急性肾小球肾炎诸如原发性 GN、免疫介导的 GN、膜性 GN（膜性肾病）、特发性膜性 GN 或特发性膜性肾病、膜增殖性或膜性增殖性 GN(MPGN)（包括 I 型和 II 型）和急进性 GN(RPGN)，增殖性肾炎，自身免疫性多腺体内分泌衰竭，龟头炎包括浆细胞性局限性龟头炎，龟头包皮炎，离心性环状红斑，持久性色素异常性红斑，多形性红斑，环状肉芽肿，光泽苔藓，硬化萎缩性苔藓，慢性单纯苔藓，小棘苔藓，扁平苔藓，片层状鱼鳞癣，表皮松解性角化过度，恶变前角化，坏疽性脓皮症，变应性疾患和应答，食物过敏，药物过敏，昆虫过敏，罕见的过敏性病症诸如肥大细胞增生病，过敏反应，湿疹包括变应性或特应性湿疹、干性湿疹、汗疱和水泡性掌跖湿疹 (vesicular palmoplantar eczema)，哮喘诸如支气管哮喘 (asthma bronchiale,bronchial asthma) 和自身免疫性哮喘，涉及 T 细胞浸润和慢性炎性应答的疾患，针对外来抗原诸如妊娠期间胎儿 A-B-O 血型的免疫反应，慢性肺部炎性疾病，自身免疫性心肌炎，白细胞粘附缺陷，狼疮包括狼疮肾炎、狼疮脑炎、儿科狼疮、非肾狼疮、

肾外狼疮、盘状狼疮和盘状红斑狼疮、狼疮脱发、SLE(诸如皮肤 SLE 或亚急性皮肤 SLE)、新生儿狼疮综合征 (NLE) 和播散性红斑狼疮,幼发型 (I 型) 糖尿病包括儿科 IDDM,成人期发作的糖尿病 (II 型糖尿病),自身免疫性糖尿病,特发性尿崩症,糖尿病视网膜病变,糖尿病肾病,糖尿病结肠炎,糖尿病大动脉病症,与细胞因子和 T- 淋巴细胞介导的急性和迟发型超敏感性有关的免疫应答,结核病,结节病,肉芽肿病包括淋巴瘤样肉芽肿病、粒细胞缺乏,血管炎病 (包括大血管血管炎 (诸如风湿性多肌痛和巨细胞 (高安氏 (Takayasu)) 动脉炎)、中血管血管炎 (诸如川崎氏 (Kawasaki) 病和结节性多动脉炎 / 结节性动脉周围炎)、免疫血管炎、CNS 血管炎、皮肤性血管炎、超敏感性血管炎、坏死性血管炎 (诸如类纤维蛋白坏死性血管炎和系统性坏死性血管炎)、ANCA 阴性血管炎和 ANCA 相关血管炎诸如丘 - 施二氏 (Churg-Strauss) 综合征 (CSS),韦格纳氏 (Wegener) 肉芽肿病和微观多脉管炎),颞动脉炎,再生障碍性贫血,自身免疫性再生障碍性贫血,库姆斯 (Coombs) 阳性贫血,戴 - 布二氏 (Diamond Blackfan) 贫血,溶血性贫血或免疫性溶血性贫血包括自身免疫性溶血性贫血 (AIHA),恶性贫血 (anemia perniciosa),阿狄森氏 (Addison) 病,单纯红细胞性贫血或再生障碍 (PRCA),因子 VIII 缺乏,血友病 A,自身免疫性嗜中性粒细胞减少症,细胞减少症诸如全血细胞减少症,白细胞减少症,涉及白细胞渗出的疾病,CNS 炎性病症,阿耳茨海默氏 (Alzheimer) 病,帕金森氏 (Parkinson) 病,多器官损伤综合征诸如那些脓毒症、外伤或出血继发的,抗原 - 抗体复合物介导的疾病,抗肾小球基底膜病,抗磷脂抗体综合征,运动神经炎,变应性神经炎,贝切特氏(Behçet)病 / 综合征,卡斯尔曼氏 (Castleman) 综合征,古德帕斯丘氏 (Goodpasture) 综合征,雷诺氏 (Reynaud) 综合征,斯耶格伦氏(Sjögren)综合征,史 - 约二氏 (Stevens-Johnson) 综合征,类天疱疮或天疱疮诸如大疱性类天疱疮、瘢痕性 (粘膜) 类天疱疮、皮肤类天疱疮、寻常型天疱疮、副肿瘤性天疱疮、落叶型天疱疮、粘膜类天疱疮型天疱疮和红斑性天疱疮,获得性大疱性表皮松解症,眼部炎症 (优选变应性眼部炎症,诸如变应性结膜炎、线性 IgA 大疱性疾病、自身免疫诱发的结膜炎症),自身免疫性多内分泌病,莱特氏 (Reiter) 病或综合征,由自身免疫性疾患引起的热伤,先兆子痫,免疫复合物病症诸如免疫复合物肾炎,抗体介导的肾炎,神经炎性病症,多神经病,慢性神经病诸如 IgM 多神经病或 IgM 介导的神经病,血小板减少症 (例如心肌梗死患者发生的) 包括血栓性血小板减少性紫癜 (TTP)、输血后紫癜 (PTP)、肝素诱发的血小板减少症和自身免疫或免疫介导的血小板减少症 (包括例如特发性血小板减少性紫癜 (ITP) 包括慢性或急性 ITP),巩膜炎诸如特发性角膜 - 巩膜炎、巩膜外层炎,睾丸和卵巢的自身免疫病包括自身免疫性睾丸炎和卵巢炎,原发性甲状腺功能减退症,甲状旁腺功能减退,自身免疫性内分泌病包括甲状腺炎 (诸如自身免疫性甲状腺炎、桥本氏 (Hashimoto) 病、慢性甲状腺炎 (桥本氏 (Hashimoto) 甲状腺炎) 或亚急性甲状腺炎)、自身免疫性甲状腺病、特发性甲状腺功能减退症、格雷夫斯氏 (Graves) 病,格雷夫斯氏眼病 (Grave's eye disease)(眼部或甲状腺相关眼部),多腺性综合征诸如自身免疫性多腺体综合征例如 I 型 (或多腺性内分泌病综合征),瘤外综合征包括神经学瘤外综合征诸如兰伯特 - 伊顿 (Lambert-Eaton) 肌无力综合征或伊顿 - 兰伯特 (Lambert-Eaton) 综合征,僵体或僵人综合征,脑脊髓炎诸如变应性脑脊髓炎 (encephalomyelitis allergica) 和实验性变应性脑脊髓炎 (EAE),重症肌无力诸如胸腺瘤相关重症肌无力,小脑变性,神经性肌强直,视性眼阵挛或视性眼阵挛肌阵挛综合征 (OMS),和感觉神经病,多病灶运动神经病,席汉氏 (Sheehan) 综合征,自身免疫

性肝炎、慢性肝炎、类狼疮肝炎、巨细胞性肝炎、慢性活动性肝炎或自身免疫性慢性活动性肝炎，肺炎诸如淋巴样间质性肺炎 (LIP)，梗阻性细支气管炎（非移植物）对 NSIP，格－巴二氏 (Guillain-Barré) 综合征，贝格尔氏 (Berger) 病 (IgA 肾病)，特发性 IgA 肾病，线性 IgA 皮肤病，急性热性嗜中性白细胞皮肤病，角质层下脓疱皮肤病，一过性棘层松解性皮肤病，硬化诸如原发性胆汁性肝硬化和肺硬变，自身免疫性肠病综合征，乳糜泻，腹腔或腹部疾病，口炎性腹泻（麸质肠病），顽固性口炎性腹泻，特发性口炎性腹泻，冷球蛋白血症诸如混合型冷球蛋白血症、肌萎缩侧索硬化 (ALS)（卢格里克氏 (Lou Gehrig) 病），冠状动脉病，自身免疫性耳病诸如自身免疫性内耳病 (AIED)、自身免疫性听觉丧失，多软骨炎诸如顽固性或复发的或复发性多软骨炎，肺泡蛋白沉着症，角膜炎诸如寇甘氏 (Cogan) 综合征／非梅毒性间质性角膜炎，贝耳氏 (Bell) 麻痹，斯威特氏 (Sweet) 病／综合征，自身免疫性酒糟鼻，带状疱疹相关疼痛，淀粉样变，非癌性淋巴细胞增多，原发性淋巴细胞增多包括单克隆 B 细胞淋巴细胞增多（例如良性单克隆丙种球蛋白病和性质未确定的单克隆丙种球蛋白病 (MGUS))，周围神经病，瘤外综合征，通道病诸如癫痫、偏头痛、心率失常、肌肉病症、失聪、失明、周期性瘫痪和 CNS 的通道病，孤独症，炎性肌病，局灶性或节段性或局灶性节段性肾小球硬化 (FSGS)，内分泌性眼病，葡萄膜视网膜炎，脉络膜视网膜炎，自身免疫性肝脏病学病症，纤维肌痛，多发性内分泌衰竭，施密特氏 (Schmidt) 综合征，肾上腺炎，胃萎缩，早老性痴呆，脱髓鞘病诸如自身免疫性脱髓鞘病和慢性炎性脱髓鞘性多神经病，德雷斯勒氏 (Dressler) 综合征，斑秃，全秃，CREST 综合征（钙质沉着症、雷诺氏 (Raynaud) 现象、食道运动功能障碍、指端硬化和毛细管扩张），男性和女性自身免疫性不孕不育例如由于抗精虫抗体的，混合性结缔组织病，恰加斯氏 (Chagas) 病，风湿热，习惯性流产，农民肺，多形红斑，心脏切开术后综合征，柯兴氏 (Cushing) 综合征，养鸟者肺，变应性肉芽肿性血管炎，良性淋巴细胞性血管炎，阿尔波特氏 (Alport) 综合征，肺泡炎诸如变应性肺泡炎和纤维化肺泡炎，间质性肺病，输血反应，麻风，疟疾，寄生虫病诸如利什曼病、锥虫病 (kypanosomiasis)、血吸虫病、蛔虫病，曲霉病，Sampter 氏综合征，卡普兰氏 (Caplan) 综合征，登革，心内膜炎，心内膜心肌纤维化，弥漫性肺间质纤维化，间质性肺纤维化，纤维性纵隔炎，肺纤维化，特发性肺纤维化，囊性纤维化，眼内炎，持久隆起性红斑，胎儿成红细胞增多症，嗜曙红细胞性筋膜炎 (faciitis)、舒尔曼氏 (Shulman) 综合征，费尔提氏 (Felty) 综合征，flariasis，睫状体炎诸如慢性睫状体炎、异时性睫状体炎、虹膜睫状体炎（急性或慢性）或 Fuch 氏睫状体炎，亨诺－许兰二氏 (Henoch-Schonlein) 紫癜，人免疫缺陷病毒 (HIV) 感染，SCID，获得性免疫缺陷综合征 (AIDS)，艾柯病毒感染，脓毒症（系统性炎性应答综合征 (SIRS))，内毒素血症，胰腺炎，甲状腺毒症 (thyroxicosis)，细小病毒感染，风疹病毒感染，种痘后综合征，先天性风疹感染，爱泼斯坦－巴尔 (Epstein-Barr) 病毒感染，腮腺炎，埃文斯 (Evans) 综合征，自身免疫性性腺衰竭，西登哈姆氏 (Sydenham) 舞蹈病，链球菌后肾炎，闭塞性血栓血管炎 (thromboangitis ubiterans)，甲状腺毒症，脊髓痨，脉络膜炎，巨细胞性多肌痛，慢性超敏感性肺炎，结膜炎，诸如春季卡他、干燥性角膜结膜炎和流行性角膜结膜炎，特发性肾炎综合征，微小病变肾病，良性家族性和缺血－再灌注损伤，移植器官再灌注，视网膜自身免疫，关节炎症，支气管炎，慢性阻塞性气道／肺部疾病，硅沉着病，口疮，口疮性口炎，动脉硬化性病症（大脑血管功能不全）诸如动脉硬化性脑病和动脉硬化性视网膜病，无精子发生 (aspermiogenese)，自身免疫性溶血，伯克氏 (Boeck)

病，冷球蛋白血症，杜普伊特伦氏 (Dupuytren) 挛缩，晶体过敏性眼内炎 (endophthalmia phacoanaphylactica)，变应性小肠炎 (enteritis allergica)，麻风节结性红斑，特发性面瘫，慢性疲乏综合征，风湿热 (febris rheumatica)，哈－里二氏 (Hamman-Rich) 病，感觉神经性听觉丧失，阵发性血红蛋白尿 (haemoglobinuria paroxysmatica)，性腺功能减退，局限性回肠炎 (ileitis regionalis)，白细胞减少症，传染性单核细胞增多症，横贯性 (traverse) 脊髓炎，原发性特发性粘液水肿，肾病，交感性眼炎 (ophthalmia symphatica) (sympathetic ophthalmitis)，新生儿眼炎，视神经炎，肉芽肿性睾丸炎 (orchitis granulomatosa)，胰腺炎，急性多神经根炎，坏疽性脓皮症，奎尔万氏 (Quervain) 甲状腺炎，获得性脾萎缩，非恶性胸腺瘤，淋巴滤泡性胸腺炎，白癜风，中毒性休克综合征，食物中毒，涉及 T 细胞浸润的疾患，白细胞粘附缺陷，与细胞因子和 T- 淋巴细胞介导的急性和迟发性超敏感性有关的免疫应答，涉及白细胞渗出的疾病，多器官损伤综合征，抗原－抗体复合物介导的疾病，抗肾小球基底膜病，自身免疫性多内分泌病，卵巢炎，原发性粘液水肿，自身免疫性萎缩性胃炎，风湿病，混合性结缔组织病，肾病综合征，胰岛炎，多内分泌衰竭，自身免疫性多腺性综合征，包括多腺性综合征 I 型，成人期发作的特发性甲状旁腺功能减退 (AOIH)，心肌病诸如扩张型心肌病，获得性大疱性表皮松解 (epidermolisis bullosa acquisita,EBA)，血色素沉着，心肌炎，肾病综合征，原发性硬化性胆管炎，化脓性或非化脓性鼻窦炎，急性或慢性鼻窦炎，筛窦炎，额窦炎，上颌窦炎或蝶窦炎，变应性鼻窦炎，嗜曙红细胞相关病症诸如嗜曙红细胞增多症、肺嗜曙红细胞增多性浸润、嗜曙红细胞增多－肌痛综合征、吕弗勒氏 (Loffler) 综合征、慢性嗜曙红细胞性肺炎、热带肺嗜曙红细胞增多、支气管肺曲霉病、曲霉肿或含有嗜曙红细胞的肉芽肿，过敏反应，脊椎关节病，血清阴性脊椎关节炎病，多内分泌自身免疫病，硬化性胆管炎，巩膜、巩膜外层、慢性粘膜皮肤假丝酵母病，布鲁顿氏 (Bruton) 综合征，婴儿期一过性低丙种球蛋白血症，威斯科特－奥尔德里齐 (Wiskott-Aldrich) 综合征，共济失调性毛细管扩张综合征，血管扩张，与以下各项有关的自身免疫性病症：胶原病、风湿病诸如慢性关节风湿病、淋巴结炎、血压应答降低 (reduction in blood pressure response)、血管功能障碍、组织损伤、心血管缺血、痛觉过敏、肾缺血、脑缺血和伴随血管化的疾病，变应性超敏感性病症，肾小球肾炎病，再灌注损伤，缺血再灌注病症，心肌或其它组织的再灌注损伤，淋巴瘤气管支气管炎，炎性皮肤病，具有急性炎性成分的皮肤病，多器官衰竭，大疱病，肾皮质坏死，急性化脓性脑膜炎或其它中枢神经系统炎性病症，眼和眶炎性病症，粒细胞输血相关综合征，细胞因子诱发的中毒，发作性睡病，急性重度炎症，慢性顽固性炎症，肾盂炎，动脉内增生，消化性溃疡，心瓣炎，和子宫内膜异位症。本文中通过施用与 B 细胞表面标志物（诸如 CD79b）的抗体来治疗此类疾病，包括施用未偶联的抗体（裸抗体）或偶联有细胞毒剂的抗体，如本文中所公开的。本文中还通过包括同时或序贯施用的本发明抗 CD79b 抗体或抗 CD79b 抗体药物偶联物与另一种抗体或抗体药物偶联物、另一种细胞毒剂、放射或其它治疗方法的组合的联合疗法来治疗此类疾病。

[0550] “处理”或“治疗”或“缓和”指治疗性处理及预防性或防范性措施二者，其中目标是预防或减缓（减轻）所针对的病理学状况或紊乱。需要治疗的受试者包括早就患有紊乱的受试者以及倾向于患上紊乱的受试者或要预防紊乱的受试者。如果在依照本发明的方法接受治疗量的抗 CD79b 抗体后，患者在如下一项或多项中显示出可观察和 / 或可测量的降低

或消失，那么受试者或哺乳动物成功“治疗”了表达 CD79b 多肽的癌症：癌细胞数减少或癌细胞消失；肿瘤体积缩小；癌细胞浸润到周围器官中，包括癌传播到软组织和骨中受到抑制（即一定程度的减缓，优选停止）；肿瘤转移受到抑制（即一定程度的减缓，优选停止）；肿瘤生长受到一定程度的抑制；和 / 或与特定癌症有关的一种或多种症状得到一定程度的减轻；发病率和死亡率降低；及生命质量提高。就抗 CD79b 抗体可预防癌细胞生长和 / 或杀死现有癌细胞而言，它可能是抑制细胞的和 / 或毒害细胞的。这些征候或症状的减轻还可以由患者感受到。

[0551] 用于评估疾病的成功治疗和改善的上述参数可以容易地通过内科医师所熟悉的常规流程来测量。对于癌症治疗，可通过例如评估疾病进展时间 (TTP) 和 / 或测定响应速率 (RR) 来测量功效。转移可通过分期测试 (staging test) 来测定，及通过骨扫描及钙水平和其它酶的测试以测定是否传播到骨。还可进行 CT 扫描以查明是否传播到骨盆及该区域中的淋巴结。分别使用胸腔 X 射线和通过已知方法进行的肝酶水平测量来查明是否转移到肺和肝。用于监测疾病的其它常规方法包括经直肠超声检查 (TRUS) 和经直肠针吸活组织检查 (TRNB)。

[0552] 对于膀胱癌，一种更加局部化的癌症，测定疾病进展的方法包括通过膀胱镜检术进行的尿细胞学评估、监测尿液中血的存在情况、通过超声波检查术显现尿路上皮道 (urothelial tract) 或静脉注射肾盂造影照片 (intravenous pyelogram)、计算机断层摄影术 (computed tomography)(CT) 和磁共振成像 (magnetic resonance imaging)(MRI)。远程转移的存在情况可通过腹部 CT、胸腔 X 射线或骨骼放射性核素成像来评估。

[0553] “长期”施用指与短期模式相反，以连续模式施用药剂，从而将初始治疗效果（活性）维持较长一段时间。“间歇”施用指不是无间断连续进行的治疗，而是本质上周期性的。

[0554] “个体”指脊椎动物。在某些实施方案中，脊椎动物指哺乳动物。哺乳动物包括，但不限于，牲畜（诸如牛）、运动用动物、宠物（诸如猫、犬和马）、灵长类动物、小鼠和大鼠。在某些实施方案中，哺乳动物指人。

[0555] 为了治疗癌症或缓和癌症症状的目的，“哺乳动物”指归入哺乳类的任何动物，包括人，家畜和牲畜，及动物园、运动或宠物动物，诸如犬、猫、牛、马、绵羊、猪、山羊、家兔、等。优选的是，哺乳动物指人。

[0556] 与一种或多种其它治疗剂“联合”施用包括同时（共同）施用和任何次序的序贯施用。

[0557] “载体”在用于本文时包括药剂学可接受的载体、赋形剂或稳定剂，它们在所采用的剂量和浓度对暴露于其的细胞或哺乳动物是无毒的。通常，生理学可接受的载体是 pH 缓冲水溶液。生理学可接受载体的例子包括缓冲剂，诸如磷酸盐、柠檬酸盐和其它有机酸；抗氧化剂，包括抗坏血酸；低分子量（少于约 10 个残基）多肽；蛋白质，诸如血清清蛋白、明胶或免疫球蛋白；亲水性聚合物，诸如聚乙烯吡咯烷酮；氨基酸，诸如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、精氨酸或赖氨酸；单糖、二糖和其它碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合剂，诸如 EDTA；糖醇，诸如甘露醇或山梨醇；成盐反荷离子，诸如钠；和 / 或非离子表面活性剂，诸如TWEEN®、聚乙二醇 (PEG) 和PLURONICS®。

[0558] “固相”或“固体支持物”意指本发明的抗体可粘着或附着其上的非水性基质。本文中所涵盖的固相的例子包括那些部分或完全由玻璃（例如可控孔径玻璃）、多糖（例如琼

脂糖）、聚丙烯酰胺、聚苯乙烯、聚乙烯醇和聚硅氧烷（silicone）制成的固相。在某些实施方案中，根据语境，固相可包括测定板的孔；在其它实施方案中，它指纯化柱（例如亲和层析柱）。此术语还包括离散颗粒的不连续固相，诸如美国专利 No. 4,275,149 中所记载的。

[0559] “脂质体”指由各种类型的脂质、磷脂和/或表面活性剂构成的，可用于对哺乳动物投递药物（诸如 CD79b 抗体）的小囊泡。脂质体的成分通常排列成双层形式，与生物膜的脂质排列相似。

[0560] “小”分子或有机“小”分子在本文中定义为分子量小于约 500 道尔顿。

[0561] “个体”、“受试者”或“患者”指脊椎动物。在某些实施方案中，脊椎动物指哺乳动物。哺乳动物包括，但不限于，牲畜（诸如牛）、运动用动物、宠物（诸如猫、犬和马）、灵长类动物、小鼠和大鼠。在某些实施方案中，哺乳动物指人。

[0562] 术语“药物配制剂”指其形式容许活性成分的生物学活性是有效的，且不含对会施用该配制剂的受试者产生不可接受的毒性的别的成分的制备物。此类配制剂可以是无菌的。

[0563] “无菌”配制剂是无菌的或者不含所有活的微生物及其孢子。

[0564] 本文中所公开的抗体的“有效量”指足以实现明确规定的目的的量。“有效量”可凭经验且以常规方式，联系规定的目的来确定。

[0565] 术语“治疗有效量”指在受试者或哺乳动物中有效“治疗”疾病或紊乱的抗体的量。在癌症的情况中，药物的治疗有效量可减少癌细胞数；缩小肿瘤体积；抑制（即一定程度的减缓，优选停止）癌细胞浸润到周围器官中；抑制（即一定程度的减缓，优选停止）肿瘤转移；一定程度的抑制肿瘤生长；和/或一定程度的减轻与癌症有关的一种或多种症状。参见本文中“治疗”的定义。就药物可预防癌细胞生长和/或杀死现有癌细胞的程度而言，它可以是抑制细胞的和/或毒害细胞的。“预防有效量”指在必需的剂量和时间上有效实现期望的预防效果的量。通常而非必然，由于预防剂量是在疾病发作之前或在疾病的早期用于受试者的，因此预防有效量将低于治疗有效量。

[0566] 抗 CD79b 抗体的“生长抑制量”指能够在体外或在体内抑制细胞，尤其是肿瘤，例如癌细胞生长的数量。抗 CD79b 抗体为了抑制肿瘤性细胞生长的“生长抑制量”可凭经验且以常规方式来确定。

[0567] 抗 CD79b 抗体的“细胞毒性量”指能够在体外或在体内引起细胞，尤其是肿瘤，例如癌细胞破坏的量。抗 CD79b 抗体为了抑制肿瘤性细胞生长的“细胞毒性量”可凭经验且以常规方式来确定。

[0568] “表达 CD79b 的细胞”指或在细胞表面上或以分泌形式表达内源或转染的 CD79b 多肽的细胞。“表达 CD79b 的癌”指包含在细胞表面上存在 CD79b 多肽或生成和分泌 CD79b 多肽的细胞的癌。“表达 CD79b 的癌”任选在其细胞表面上生成足够水平的 CD79b 多肽，使得抗 CD79b 抗体可与其结合并对癌产生治疗效果。在另一个实施方案中，“表达 CD79b 的癌”任选生成和分泌足够水平的 CD79b 多肽，使得抗 CD79b 抗体可与其结合并对癌具有治疗效果。对于后者，所述拮抗剂可以是降低、抑制或阻止肿瘤细胞生成和分泌分泌型 CD79b 多肽的反义寡核苷酸。“过表达”CD79b 多肽的癌指与同一组织类型的非癌性细胞相比，在其细胞表面上具有显著更高水平的 CD79b 多肽或生成和分泌显著更高水平的 CD79b 多肽的癌。此类过表达可以是由基因扩增或者是由转录或翻译提高引起的。可在检测或预后测定法中通

过评估细胞表面上存在的或细胞分泌的CD79b蛋白质水平的升高（例如通过免疫组织化学测定法，使用针对分离的CD79b多肽制备的抗CD79b抗体，所述多肽可使用重组DNA技术从编码CD79b多肽的分离的核酸制备；FACS分析；等）来确定CD79b多肽过表达。或者/另外，可测量细胞中编码CD79b多肽的核酸或mRNA的水平，例如通过荧光原位杂交，使用对应于编码CD79b的核酸或其互补链的基于核酸的探针（FISH；参见WO 98/45479，公开于1998年10月）；Southern印迹；Northern印迹；或聚合酶链式反应（PCR）技术，诸如实时定量PCR(RT-PCR)。还可使用基于抗体的测定法，通过测量生物学流体诸如血清中的脱落抗原来研究CD79b多肽过表达（还可参见例如美国专利4,933,294，授权于1990年6月12日；WO 91/05264，公开于1991年4月18日；美国专利5,401,638，授权于1995年3月28日；Sias et al.，J.Immunol.Methods 132:73-80(1990)）。除了上述测定法，熟练从业人员还可利用多种体内测定法。例如，可将患者体内细胞暴露于任选用可检测标记物例如放射性同位素标记的抗体，并且可评估抗体与患者体内细胞的结合，例如通过外部扫描放射性或通过分析取自事先已暴露于所述抗体的患者的活组织检查切片。

[0569] 在用于本文时，术语“免疫粘附素”指将异源蛋白质（“粘附素”）的结合特异性与免疫球蛋白恒定域的效应器功能联合起来的抗体样分子。在结构上，免疫粘附素包括不同于抗体的抗原识别和结合位点（即是“异源”的）、具有期望结合特异性的氨基酸序列和免疫球蛋白恒定域序列的融合物。免疫粘附素分子的粘附素部分典型的是至少包含受体或配体的结合位点的连续氨基酸序列。免疫粘附素中的免疫球蛋白恒定域序列可以从任何免疫球蛋白获得，诸如IgG-1、IgG-2、IgG-3或IgG-4亚型、IgA（包括IgA-1和IgA-2）、IgE、IgD或IgM。

[0570] “标记物”在本文中使用时指与抗体直接或间接偶联从而生成“带标记物的”或“经过标记的”抗体的可检测化合物或组合物。标记物可以是通过自身就可检测的（例如放射性同位素标记物或荧光标记物），或者在酶标记物的情况中，可催化可检测的底物化合物或组合物的化学改变。

[0571] 术语“细胞毒剂”在用于本文时指抑制或防止细胞的功能和/或引起细胞破坏的物质。该术语意图包括：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}和Lu的放射性同位素；化疗剂，例如甲氨蝶呤（methotrexate）、阿霉素（adriamycin）、长春花生物碱类（vinca alkaloids）（长春新碱（vincristine）、长春碱（vinblastine）、依托泊苷（etoposide））、多柔比星（doxorubicin）、美法仑（melphalan）、丝裂霉素（mitomycin）C、苯丁酸氮芥（chlorambucil）、柔红霉素（daunorubicin）或其它嵌入剂；酶及其片段，诸如溶核酶；抗生素；和毒素，诸如小分子毒素或者细菌、真菌、植物或动物起源的酶活毒素，包括其片段和/或变体；及下文披露的各种抗肿瘤药或抗癌药。下文记载了其它细胞毒剂。杀肿瘤药引起肿瘤细胞的破坏。

[0572] “毒素”指能够对细胞的生长或增殖产生有害效果的任何物质。

[0573] “化疗剂”指可用于治疗癌症的化学化合物，不管作用机制。化疗剂的类别包括但不限于：烷化剂类（alkyating agents）、抗代谢物类（antimetabolites）、纺锤体毒植物生物碱类（spindle poison plant alkaloids）、细胞毒性/抗肿瘤抗生素类（cytoxic/antitumor antibiotics）、拓扑异构酶抑制剂类（topoisomerase inhibitors）、抗体类（antibodies）、光敏剂类（photosensitizers）和激酶抑制

剂类(kinase inhibitors)。化疗剂包括在“靶向疗法”和常规化疗中使用的化合物。化疗剂的例子包括:erlotinib(TARCEVA®,Genentech/OSI Pharm.)、多西他塞(docetaxel)(TAXOTERE®,Sanofi-Aventis)、5-FU(氟尿嘧啶,5-氟尿嘧啶,CAS No.51-21-8)、吉西他滨(gemcitabine)(GEMZAR®,Lilly)、PD-0325901(CAS No.391210-10-9,Pfizer)、顺铂(cisplatin)(顺式-二胺,二氯铂(II),CAS No.15663-27-1)、卡铂(carboplatin)(CAS No.41575-94-4)、帕利他塞(paclitaxel)(TAXOL®,Bristol-Myers Squibb Oncology,Princeton,N.J.)、曲妥单抗(trastuzumab)(HERCEPTIN®,Genentech)、替莫唑胺(temozolomide)(4-甲基-5-氧-2,3,4,6,8-五氮双环[4.3.0]九-2,7,9-三烯-9-羧酰胺,CAS No.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®)和多柔比星(doxorubicin)(ADRIAMYCIN®)、Akti-1/2、HPPD和雷帕霉素(rapamycin)。

[0574] 化疗剂的更多例子包括:化疗剂的更多例子包括:奥沙利铂(oxaliplatin)(ELOXATIN®,Sanofi)、bortezomib(VELCADE®,Millennium Pharm.)、sutent(SUNITINIB®,SU11248,Pfizer)、来曲唑(letrozole)(FEMARA®,Novartis)、甲磺酸伊马替尼(imatinib mesylate)(GLEEVEC®,Novartis)、XL-518(Mek抑制剂,Exelixis,WO 2007/044515)、ARRY-886(Mek抑制剂,AZD6244,Array BioPharma,Astra Zeneca)、SF-1126(PI3K抑制剂,Semafore Pharmaceuticals)、BEZ-235(PI3K抑制剂,Novartis)、XL-147(PI3K抑制剂,Exelixis)、PTK787/ZK222584(Novartis)、氟维司群(fulvestrant)(FASLODEX®,AstraZeneca)、亚叶酸(leucovorin,folinic acid)、雷帕霉素(rapamycin)(西罗莫司(sirolimus),RAPAMUNE®,Wyeth)、lapatinib(TYKERB®,GSK572016,Glaxo Smith Kline)、lonafarnib(SARASAR™,SCH 66336,Schering Plough)、sorafenib(NEXAVAR®,BAY43-9006,Bayer Labs)、gefitinib(IRESSA®,AstraZeneca)、伊立替康(irinotecan)(CAMPTOSAR®,CPT-11,Pfizer)、tipifarnib(ZARNESTRA™,Johnson&Johnson)、ABRAXANE™不含克列莫佛(Cremophor)、清蛋白改造纳米颗粒剂型帕利他塞(paclitaxel)(American Pharmaceutical Partners,Schaumberg,Il)、vandetanib(rINN,ZD6474,ZACTIMA®,AstraZeneca)、chloranmbucil、AG1478、AG1571(SU 5271;Sugen)、temsirolimus(TORISEL®,Wyeth)、pazopanib(GlaxoSmithKline)、canfosfamide(TELCYTA®,Telik)、塞替派(thiotepa)和环磷酰胺(cyclophosphamide)(CYTOXAN®,NEOSAR®);磺酸烷基酯类(alkyl sulfonates),诸如白消安(busulfan)、英丙舒凡(improsulfan)和哌泊舒凡(piposulfan);氮丙啶类(aziridines),诸如苯佐替派(benzodepa)、卡波醌(carboquone)、美妥替派(meturedepa)和乌瑞替派(uredepa);乙撑亚胺类(ethylenimines)和甲基蜜胺类(methylamelamines),包括六甲蜜胺(altretamine)、三乙撑蜜胺(triethylenemelamine)、三乙撑磷酰胺(triethylenephosphoramide)、三乙撑

硫代磷酰胺(triethylenethiophosphoramide)和三羟甲蜜胺(trimethylomelamine)；番荔枝内酯类(acetogenins)(尤其是布拉他辛(bullatacin)和布拉他辛酮(bullatacinone))；喜树碱(camptothecin)(包括合成类似物托泊替康(topotecan))；苔藓抑素(bryostatin)；callystatin；CC-1065(包括其阿多来新(adozelesin)、卡折来新(carzelesin)和比折来新(bizelesin)合成类似物)；隐藻素类(cryptophycins)(特别是隐藻素1和隐藻素8)；多拉司他汀(dolastatin)；duocarmycin(包括合成类似物，KW-2189和CB1-TM1)；艾榴塞洛素(eleutherobin)；pancratistatin；sarcodictyin；海绵抑素(spongistatin)；氮芥类(nitrogen mustards)，诸如苯丁酸氮芥(chlorambucil)、萘氮芥(chlornaphazine)、胆磷酰胺(chlorophosphamide)、雌莫司汀(estramustine)、异环磷酰胺(ifosfamide)、双氯乙基甲胺(mechlorethamine)、盐酸氧氮芥(mechlorethamine oxide hydrochloride)、美法仑(melphalan)、新氮芥(novembichin)、苯芥胆甾醇(phenesterine)、泼尼莫司汀(prednimustine)、曲磷胺(trofosfamide)、尿嘧啶氮芥(uracil mustard)；亚硝脲类(nitrosoureas)，诸如卡莫司汀(carmustine)、氯脲菌素(chlorozotocin)、福莫司汀(fotemustine)、洛莫司汀(lomustine)、尼莫司汀(nimustine)和雷莫司汀(ranimustine)；抗生素类，诸如烯二炔类抗生素(enediyne)(例如加利车霉素(calicheamicin)、加利车霉素γ1I、加利车霉素ωI1(Angew Chem.Intl.Ed.Engl.,(1994)33:183-186)；葸环类抗生素(dynemicin)，dynemicin A；二膦酸盐类(bisphosphonates)，诸如氯膦酸盐(clodronate)；埃斯波霉素(esperamicin)；以及新制癌素(neocarzinostatin)发色团和相关色蛋白烯二炔类抗生素发色团)、阿克拉霉素(aclacinomycin)、放线菌素(actinomycin)、氨茴霉素(anthramycin)、偶氮丝氨酸(azaserine)、博来霉素(bleomycin)、放线菌素C(cactinomycin)、carabicin、洋红霉素(carminomycin)、嗜癌霉素(carzinophilin)、色霉素(chromomycin)、放线菌素D(dactinomycin)、柔红霉素(daunorubicin)、地托比星(detorubicin)、6-二氮-5-氧-L-正亮氨酸、吗啉代多柔比星、氰基吗啉代多柔比星、2-吡咯代多柔比星和脱氧多柔比星)、表柔比星(epirubicin)、依索比星(esorubicin)、伊达比星(idarubicin)、麻西罗霉素(marcellomycin)、丝裂霉素类(mitomycins)诸如丝裂霉素C、霉酚酸(mycophenolic acid)、诺拉霉素(nogalamycin)、橄榄霉素(olivomycin)、培洛霉素(peplomycin)、泊非霉素(porfiromycin)、嘌呤霉素(puromycin)、三铁阿霉素(quelamycin)、罗多比星(rodorubicin)、链黑菌素(streptonigrin)、链佐星(streptozocin)、杀结核菌素(tubercidin)、乌苯美司(ubenimex)、净司他丁(zinostatin)、佐柔比星(zorubicin)；抗代谢物类，诸如甲氨蝶呤(methotrexate)和5-氟尿嘧啶(5-FU)；叶酸类似物，诸如二甲叶酸(denopterin)、甲氨蝶呤(methotrexate)、蝶罗呤(pteropterin)、三甲曲沙(trimetrexate)；嘌呤类似物，诸如氟达拉滨(fludarabine)、6-巯基嘌呤(mercaptopurine)、硫咪嘌呤(thiamiprine)、硫鸟嘌呤(thioguanine)；嘧啶类似物，诸如安西他滨(ancitabine)、阿扎胞苷(azacitidine)、6-氮尿苷(azauridine)、卡莫氟(carmofur)、阿糖胞苷(cytarabine)、双脱氧尿苷(dideoxyuridine)、去氧氟尿苷(doxifluridine)、依诺他滨(enocitabine)、氟尿苷(floxuridine)；雄激素类，诸如卡鲁睾酮(calusterone)、丙酸屈他雄酮(dromostanolone propionate)、表硫雄醇(epitiostanol)、美雄烷(mepitiostane)、睾内酯(testolactone)；抗肾上腺类，诸如氨鲁

米特 (aminoglutethimide)、米托坦 (mitotane)、曲洛司坦 (trilostane) ;叶酸补充剂,诸如亚叶酸 (folinic acid) ;醋葡醛内酯 (aceglatone) ;醛磷酰胺糖苷 (aldophosphamide glycoside) ;氨基乙酰丙酸 (aminolevulinic acid) ;恩尿嘧啶 (eniluracil) ;安吖啶 (amsacrine) ;bestrabucil ;比生群 (bisantrene) ;依达曲沙 (edatraxate) ;地磷酰胺 (defosfamide) ;地美可辛 (demecolcine) ;地吖醌 (diaziquone) ;elfornithine ;依利醋铵 (elliptinium acetate) ;埃坡霉素 (epothilone) ;依托格鲁 (etoglucid) ;硝酸镓 ;羟脲 (hydroxyurea) ;香菇多糖 (lentinan) ;氯尼达明 (lonidamine) ;美登木素生物碱类 (maytansinoids),诸如美登素 (maytansine) 和安丝菌素 (ansamitocin) ;米托胍腙 (mitoguazone) ;米托蒽醌 (mitoxantrone) ;莫哌达醇 (mopidamol) ;二胺硝吖啶 (nitracrine) ;喷司他丁 (pentostatin) ;蛋氨氮芥 (phenamet) ;吡柔比星 (pirarubicin) ;洛索蒽醌 (losoxantrone) ;鬼臼酸 (podophyllinic acid) ;2- 乙基酰肼 (ethylhydrazide) ;丙卡巴肼 (procarbazine) ;PSK® 多糖复合物 (JHS Natural Products,Eugene,OR) ;雷佐生 (razoxane) ;根霉素 (rhizoxin) ;西佐喃 (sizofiran) ;螺旋锗 (spirogermanium) ;细交链孢菌酮酸 (tenuazonic acid) ;三亚胺醌 (triaziquone) ;2,2',2″ - 三氯三乙胺 ;单端孢菌素类 (trichothecenes)(尤其是 T-2 毒素、疣孢菌素 (verrucarin)A、杆孢菌素 (roridin)A 和蛇行菌素 (anguidin)) ;乌拉坦 (urethan) ;长春地辛 (vindesine) ;达卡巴嗪 (dacarbazine) ;甘露莫司汀 (mannomustine) ;二溴甘露醇 (mitobronitol) ;二溴卫矛醇 (mitolactol) ;哌泊溴烷 (pipobroman) ;gacytosine ;阿糖胞苷 (arabinoside)(“Ara-C”) ;环磷酰胺 (cyclophosphamide) ;塞替派 (thiotepa) ;6- 硫鸟嘌呤 (thioguanine) ;巯基嘌呤 (mercaptopurine) ;甲氨蝶呤 (methotrexate) ;铂类似物,诸如顺铂 (cisplatin) 和卡铂 (carboplatin) ;长春碱 (vinblastine) ;依托泊苷 (etoposide)(VP-16) ;异环磷酰胺 (ifosfamide) ;米托蒽醌 (mitoxantrone) ;长春新碱 (vincristine) ;长春瑞滨 (vinorelbine) (NAVELBINE®) ;能灭瘤 (novantrone) ;替尼泊苷 (teniposide) ;依达曲沙 (edatrexate) ;道诺霉素 (daunomycin) ;氨基蝶呤 (aminopterin) ;卡培他滨 (capecitabine)(XELODA®,Roche) ;伊本膦酸盐 (ibandronate) ;CPT-11 ;拓扑异构酶抑制剂 RFS 2000 ;二氟甲基鸟氨酸 (DMFO) ;类视黄酸类 (retinoids),诸如视黄酸 (retinoic acid) ;及任何上述物质的药剂学可接受的盐、酸和衍生物。

[0575] “化疗剂”的定义中还包括 :(i) 抗激素剂,其作用是调节或抑制激素对肿瘤的作用,诸如抗雌激素类和选择性雌激素受体调节剂类 (SERM),包括例如他莫昔芬 (tamoxifen)(包括NOLVADEX® ;柠檬酸他莫昔芬)、雷洛昔芬 (raloxifene)、屈洛昔芬 (droloxifene)、4- 羟基他莫昔芬、曲沃昔芬 (trioxifene)、那洛昔芬 (keoxifene)、LY117018、奥那司酮 (onapristone) 和FARESTON® (柠檬酸托瑞米芬 (toremifene citrate)) ;(ii) 芳香酶抑制剂,其抑制在肾上腺中调节雌激素生成的芳香酶,诸如例如 4(5)- 咪唑、氨鲁米特 (aminoglutethimide)、MEGASE® (醋酸甲地孕酮 (megestrol acetate))、AROMASIN® (依西美坦 (exemestane) ;Pfizer)、福美坦 (formestane)、法倔唑 (fadrozole)、RIVISOR® (伏罗唑 (vorozole))、FEMARA® (来曲唑 (letrozole) ;Novartis) 和 ARIMIDEX® (阿那曲唑 (anastrozole) ;AstraZeneca) ;

(iii) 抗雄激素类，诸如氟他米特 (flutamide)、尼鲁米特 (nilutamide)、比卡米特 (bicalutamide)、亮丙瑞林 (leuprolide) 和戈舍瑞林 (goserelin)；以及曲沙他滨 (troxacitabine)(1,3- 二氧戊环核苷胞嘧啶类似物)；(iv) 蛋白质激酶抑制剂，诸如 MEK 抑制剂 (WO 2007/044515)；(v) 脂质激酶抑制剂；(vi) 反义寡核苷酸，特别是抑制牵涉异常 (aberrant) 细胞增殖的信号传导途经中的基因表达的反义寡核苷酸，例如 PKC-α、Raf 和 H-Ras，诸如 oblimersen(GENASENSE®，Genta Inc.)；(vii) 核酶，诸如 VEGF 表达抑制剂 (例如ANGIOZYME®) 和 HER2 表达抑制剂；(viii) 疫苗，诸如基因疗法疫苗，例如ALLOVECTIN®、LEUVECTIN®和VAXID®；PROLEUKIN® rIL-2；拓扑异构酶 1 抑制剂，诸如LURTOTECAN®；ABARELIX® rmRH；(ix) 抗血管发生剂，诸如贝伐单抗 (bevacizumab)(AVASTIN®，Genentech)；及任何上述物质的药学可接受盐、酸和衍生物。

[0576] “化疗剂”的定义中还包括治疗性抗体，诸如阿伦单抗 (alemtuzumab)(Campath)、贝伐单抗 (bevacizumab)(AVASTIN®，Genentech)、西妥昔单抗 (cetuximab)(ERBITUX®，Imclone)、panitumumab(VECTIBIX®，Amgen)、利妥昔单抗 (rituximab)(RITUXAN®，Genentech/Biogen Idec)、pertuzumab(OMNITARG™，2C4，Genentech)、曲妥单抗 (trastuzumab)(HERCEPTIN®，Genentech)、托西莫单抗 (tositumomab)(Bexxar，Corixia)、及抗体药物偶联物、吉姆单抗奥佐米星 (gemtuzumab ozogamicin)(MYLOTARG®，Wyeth)。

[0577] “生长抑制剂”在用于本文时指在体外或在体内抑制细胞，尤其是表达 CD79b 的癌细胞生长的化合物或组合物。因此，生长抑制剂可以是显著降低处于 S 期的表达 CD79b 的细胞百分比的药剂。生长抑制剂的例子包括阻断细胞周期行进 (处于 S 期以外的位置) 的药剂，诸如诱导 G1 停滞和 M 期停滞的药剂。经典的 M 期阻断剂包括长春药类 (vincas)(长春新碱 (vincristine) 和长春碱 (vinblastine))、紫杉烷类 (taxanes) 和拓扑异构酶 II 抑制剂诸如多柔比星 (doxorubicin)、表柔比星 (epirubicin)、柔红霉素 (daunorubicin)、依托泊苷 (etoposide) 和博来霉素 (bleomycin)。那些阻滞 G1 的药剂也溢出进入 S 期停滞，例如 DNA 烷化剂类诸如他莫昔芬 (tamoxifen)、泼尼松 (prednisone)、达卡巴嗪 (dacarbazine)、双氯乙基甲胺 (mechlorethamine)、顺铂 (cisplatin)、甲氨蝶呤 (methotrexate)、5- 氟尿嘧啶 (5-fluorouracil) 和 ara-C。更多信息可参见《The Molecular Basis of Cancer》，Mendelsohn 和 Israel 编，第 1 章，题为“Cell cycle regulation，oncogenes，and antieioplastic drugs”，Murakaini 等人，WB Saunders，Philadelphia，1995，尤其是第 13 页。紫杉烷类 (紫杉醇 (paclitaxel) 和多西他赛 (docetaxel)) 是衍生自紫杉树的抗癌药。衍生自欧洲紫杉的多西他赛 (TAXOTERE®，Rhone-Poulenc Rorer) 是紫杉醇 (TAXOL®，Bristol-Myers Squibb) 的半合成类似物。紫杉醇和多西他赛促进由微管蛋白二聚体装配成微管并通过防止解聚使微管稳定，导致对细胞中有丝分裂的抑制。

[0578] “多柔比星 (Doxorubicin)”是蒽环类抗生素。多柔比星的完整化学名是 (8S- 顺式)-10-[(3- 氨基 -2,3,6- 三脱氧 -α-L- 来苏 - 吡喃己糖基) 氧基]-7,8,9,10- 四氢 -6,8,11- 三羟基 -8-(羟基乙酰基)-1- 甲氧基 -5,12- 萘二酮。

[0579] (8S-cis)-10-[(3-amino-2,3,6-trideoxy-α-L-lyxo-hexapyranosyl)oxy]-7,8,9,10-tetra hydro-6,8,11-trihydroxy-8-(hydroxyacetyl)-1-methoxy-5,12-naphthacenedione

[0580] 术语“细胞因子”是由一种细胞群释放，作为细胞间介质作用于另一细胞的蛋白质的通称。此类细胞因子的例子有淋巴因子、单核因子和传统的多肽激素。细胞因子中包括生长激素，诸如人生长激素、N-甲硫氨酰人生长激素和牛生长激素；甲状旁腺素；甲状腺素；胰岛素；胰岛素原；松驰素；松驰素原；糖蛋白激素类，诸如促卵泡激素(FSH)、促甲状腺激素(TSH)和促黄体激素(LH)；肝生长因子；成纤维细胞生长因子；促乳素；胎盘催乳激素；肿瘤坏死因子-α和-β；穆勒氏(Mullerian)抑制性物质；小鼠促性腺激素相关肽；抑制素；激活素；血管内皮生长因子；整联蛋白；血小板生成素(TPO)；神经生长因子，诸如NGF-β；血小板生长因子；转化生长因子(TGF)，诸如TGF-α和TGF-β；胰岛素样生长因子-I和-II；红细胞生成素(EPO)；骨诱导因子(osteoinductive factor)；干扰素，诸如干扰素-α、-β和-γ；集落刺激因子(CSF)，诸如巨噬细胞CSF(M-CSF)、粒细胞-巨噬细胞CSF(GM-CSF)和粒细胞CSF(G-CSF)；白介素(IL)，诸如IL-1、IL-1α、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-11、IL-12；肿瘤坏死因子，诸如TNF-α或TNF-β；及其它多肽因子，包括LIF和kit配体(KL)。在用于本文时，术语细胞因子包括来自天然来源或来自重组细胞培养物的蛋白质及天然序列细胞因子的生物学活性等效物。

[0581] “包装插页”用于指通常包括在治疗用产品的商业包装中的说明书，它们包含有关涉及此类治疗用产品应用的适应征、用法、剂量、施用、禁忌症和/或警告的信息。

[0582] 术语“胞内代谢物”指由细胞内对抗体-药物偶联物(ADC)的代谢过程或反应产生的化合物。所述代谢过程或反应可以是酶促过程，诸如ADC的肽接头的蛋白水解切割或官能基诸如腙、酯或酰胺的水解。胞内代谢物包括但不限于在进入、扩散、摄取或转运进入细胞后经历胞内切割的抗体和游离药物。

[0583] 术语“胞内切割的”和“胞内切割”指细胞内对抗体-药物偶联物(ADC)的代谢过程或反应，由此共价附着，即药物模块(D)与抗体(Ab)之间的接头被打断，导致在细胞内游离药物与抗体解离。ADC别切割的模块因而是胞内代谢物。

[0584] 术语“生物利用度”指施用于患者的给定量的药物的系统利用度(即血液/血浆水平)。生物利用度是表明药物从所施用的剂量形式到达大循环的时间(速率)和总量(程度)二者度量的绝对项。

[0585] 术语“细胞毒活性”指ADC或ADC的胞内代谢物的细胞杀伤、细胞抑制或生长抑制效果。细胞毒活性可以表述为IC_{50}值，即半数细胞存活时每单位体积的浓度(摩尔或质量)。

[0586] 如本文中所使用的，术语“烷基”指1-12个碳原子(C_1－C_{12})的饱和的、线性的或分支的单价烃基，其中烷基可以是任选用下文所述一种或多种取代基取代的。在另一个实施方案质，烷基指1-8个碳原子(C_1－C_8)或1-6个碳原子(C_1－C_6)的。烷基的实例包括但不限于甲基(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，异丙基，$-CH(CH_3)_2$)、1-丁基(n-Bu，正丁基，$-CH_2CH_2CH_2CH_3$)、2-甲基-1-丙基(i-Bu，异丁基，$-CH_2CH(CH_3)_2$)、2-丁基(s-Bu，仲丁基，$-CH(CH_3)CH_2CH_3$)、2-甲基-2-丙基(t-Bu，叔丁基，$-C(CH_3)_3$)、1-戊基(n-戊基，$-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$)、2-戊基($-CH(CH_3)CH_2CH_2CH_3$)、3-戊

基 (-CH(CH$_2$CH$_3$)$_2$)、2- 甲基 -2- 丁基 (-C(CH$_3$)$_2$CH$_2$CH$_3$)、3- 甲基 -2- 丁基 (-CH(CH$_3$)CH(CH$_3$)$_2$)、3- 甲基 -1- 丁基 (-CH$_2$CH$_2$CH(CH$_3$)$_2$)、2- 甲基 -1- 丁基 (-CH$_2$CH(CH$_3$)CH$_2$CH$_3$)、1- 己基 (-CH$_2$CH$_2$CH$_2$CH$_2$CH$_2$CH$_3$)、2- 己基 (-CH(CH$_3$)CH$_2$CH$_2$CH$_2$CH$_3$)、3- 己基 (-CH(CH$_2$CH$_3$)(CH$_2$CH$_2$CH$_3$))、2- 甲基 -2- 戊基 (-C(CH$_3$)$_2$CH$_2$CH$_2$CH$_3$)、3- 甲基 -2- 戊基 (-CH(CH$_3$)CH(CH$_3$)CH$_2$CH$_3$)、4- 甲基 -2- 戊基 (-CH(CH$_3$)CH$_2$CH(CH$_3$)$_2$)、3- 甲基 -3- 戊基 (-C(CH$_3$)(CH$_2$CH$_3$)$_2$)、2- 甲基 -3- 戊基 (-CH(CH$_2$CH$_3$)CH(CH$_3$)$_2$)、2,3- 二甲基 -2- 丁基 (-C(CH$_3$)$_2$CH(CH$_3$)$_2$)、3,3- 二甲基 -2- 丁基 (-CH(CH$_3$)C(CH$_3$)$_3$、1- 庚基、1- 辛基、等等。

[0587] 术语“烯基”指 2-8 个碳原子 (C_2 — C_8) 的、有至少一个不饱和位点 (即碳 - 碳，sp^2 双键) 的、线性的或分支的单价烃基，其中烯基可以是任选用下文所述一种或多种取代基独立取代的，而且包括具有“顺式”和“反式”取向或者“E”和“Z”取向的根。实例包括但不限于乙烯基 (-CH = CH$_2$)、丙烯基 (-CH$_2$CH = CH$_2$)、等等。

[0588] 术语“炔基”指 2-8 个碳原子 (C_2 — C_8) 的、有至少一个不饱和位点 (即碳 - 碳，sp 三键) 的、线性的或分支的单价烃基，其中炔基可以是任选用下文所述一种或多种取代基独立取代的。实例包括但不限于乙炔基 (-C ≡ CH)、丙炔基或炔丙基 (-CH$_2$C ≡ CH)、等等。

[0589] 术语“碳环”、“碳环基”、“碳环环”和“环烃基”指作为单环环具有 3-12 个碳原子 (C_3 — C_{12}) 或作为双环环具有 7-12 个碳原子的、单价的、非芳香族的、饱和的或部分未饱和的环。具有 7-12 个碳的双环碳环可以排列成例如双环 [4,5]、[5,5]、[5,6] 或 [6,6] 体系，而具有 9 或 10 个环原子的双环碳环可以排列成双环 [5,6] 或 [6,6] 体系，或者桥连体系诸如双环 [2.2.1] 庚烷、双环 [2.2.2] 辛烷和双环 [3.2.2] 壬烷。单环碳环的实例包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、1- 环戊 -1- 烯基、1- 环戊 -2- 烯基、1- 环戊 -3- 烯基、环己基、1- 环己 -1- 烯基、1- 环己 -2- 烯基、1- 环己 -3- 烯基、环己二烯基、环庚基、环辛基、环壬基、环癸基、环十一烷基、环十二烷基、等等。

[0590] “芳基”指 6-20 个碳原子 (C_6 — C_{20}) 的、通过从亲本芳香族环体系的一个碳原子除去一个氢原子而衍生的、单价烃基。有些芳基在例示结构中以“Ar”来代表。芳基包括包含与饱和的、部分未饱和的环或芳香族碳环环融合的芳香环的双环基。典型的芳基包括但不限于自苯 (苯基)、取代的苯、萘、蒽、联苯、茚基、茚满基、1,2- 二氢萘、1,2,3,4- 四氢萘基、等等衍生的。芳基可以是任选用本文所述一种或多种取代基独立取代的。

[0591] 术语“杂环”、“杂环基”和“杂环环”在本文中可互换使用，指 3-20 个环原子的 (其中至少一个环原子是选自氮、氧、磷和硫的杂原子，其余环原子是 C)、饱和的或部分未饱和的 (即在环内具有一个或多个双键和 / 或三键) 碳环基，其中一个或多个环原子是任选用下文所述一种或多种取代基独立取代的。杂环可以是具有 3-7 个环成员 (2-6 个碳原子和 1-4 个选自 N、O、P 和 S 的杂原子) 的单环或具有 7-10 个环成员 (4-9 个碳原子和 1-6 个选自 N、O、P 和 S 的杂原子) 的双环，例如双环 [4,5]、[5,5]、[5,6] 或 [6,6] 体系，而具有 9 或 10 个环原子的双环碳环可以排列成双环 [5,6] 或 [6,6] 体系。杂环记载于 Paquette, Leo A. ;"Principles of Modern Heterocyclic Chemistry"(W.A.Benjamin, New York, 1968), 特别是第 1,3,4,6,7, 和 9 章 ;"The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A series of Monographs"(John Wiley&Sons, New York, 1950 至今), 特别是第 13,14,16,19, 和 28 卷 ; 及 J.Am.Chem.Soc.(1960)82:5566。“杂环基”还包括杂环基与饱和的、部分未饱和的环或芳香族碳环或杂环环融合的根。杂环环的实例包括但不限于吡咯烷基

(pyrrolidinyl)、四氢呋喃基(tetrahydrofuranyl)、二氢呋喃基(dihydrofuranyl)、四氢噻吩基(tetrahydrothienyl)、四氢吡喃基(tetrahydropyranyl)、二氢吡喃基(dihydropyranyl)、四氢硫代吡喃基(tetrahydrothiopyranyl)、哌啶子基(piperidino)、吗啉子基(morpholino)、硫代吗啉子基(thiomorpholino)、噻吨烷基(thioxanyl)、哌嗪基(piperazinyl)、高哌嗪基(homopiperazinyl)、氮杂环丁烷基(azetidinyl)、氧杂环丁烷基(oxetanyl)、thietanyl、高哌啶基(homopiperidinyl)、oxepanyl、thiepanyl、oxazepinyl、二氮杂草基(diazepinyl)、thiazepinyl、2-吡咯啉基(2-pyrrolinyl)、3-吡咯啉基(3-pyrrolinyl)、(indolineyl)、2H-吡喃基(2H-pyranyl)、4H-吡喃基(4H-pyranyl)、二吨烷基(dioxanyl)、1,3-二氧戊环基(1,3-dioxolanyl)、吡唑啉基(pyrazolinyl)、二噻烷基(dithianyl)、二硫戊环基(dithiolanyl)、二氢吡喃基(dihydropyranyl)、二氢噻吩基(dihydrothienyl)、二氢呋喃基(dihydrofuranyl)、吡唑烷基(pyrazolidinyl)咪唑啉基(imidazolinyl)、咪唑烷基(imidazolidinyl)、3-氮双环[3.1.0]己烷基(3-azabicyco[3.1.0]hexanyl)、3-氮双环[4.1.0]庚烷基(3-azabicyclo[4.1.0]heptanyl)、氮双环[2.2.2]己烷基(azabicyclo[2.2.2]hexanyl)、3H-吲哚基(3H-indolyl)喹嗪基(quinolizinyl)和N-吡啶基尿素(N-pyridyl ureas)。螺模块也包括在此定义的范围内。其中2个环碳原子被氧(=O)模块取代的杂环基的实例有嘧啶酮基(pyrimidinonyl)和1,1-二氧-硫代吗啉基(1,1-dioxo-thiomorpholinyl)。本文中的杂环基是任选用本文所述一种或多种取代基独立取代的。

[0592] 术语“杂芳基”指五、六或七元环的单价芳香基,而且包括5-20个原子(含有一个或多个独立选自氮、氧和硫的杂原子)的稠环体系(其中至少一个是芳香族的)。杂芳基的实例有吡啶基(pyridinyl)(包括例如2-羟基吡啶基)、咪唑基(imidazolyl)、咪唑并吡啶基(imidazopyridinyl)、嘧啶基(pyrimidinyl)(包括例如4-羟基嘧啶基)、吡唑基(pyrazolyl)、三唑基(triazolyl)、吡嗪基(pyrazinyl)、四唑基(tetrazolyl)、呋喃基(furyl)、噻吩基(thienyl)、异噁唑基(isoxazolyl)、噻唑基(thiazolyl)、噁唑基(oxazolyl)、异噻唑基(isothiazolyl)、吡咯基(pyrrolyl)、喹啉基(quinolinyl)、异喹啉基(isoquinolinyl)、吲哚基(indolyl)、苯并咪唑基(benzimidazolyl)、苯并呋喃基(benzofuranyl)、噌啉基(cinnolinyl)、吲唑基(indazolyl)、吲嗪基(indolizinyl)、酞嗪基(phthalazinyl)、哒嗪基(pyridazinyl)、三嗪基(triazinyl)、异吲哚基(isoindolyl)、喋啶基(pteridinyl)、嘌呤基(purinyl)、噁二唑基(oxadiazolyl)、三唑基(triazolyl)、噻二唑基(thiadiazolyl)、噻二唑基(thiadiazolyl)、呋咱基(furazanyl)、苯并呋咱基(benzofurazanyl)、苯并噻吩基(benzothiophenyl)、苯并噻唑基(benzothiazolyl)、苯噁唑基(benzoxazolyl)、喹唑啉基(quinazolinyl)、喹噁啉基(quinoxalinyl)、naphthyridinyl和furopyridinyl。杂芳基是任选用本文所述一种或多种取代基独立取代的。

[0593] 杂环或杂芳基可以是碳(碳连的)或氮(氮连的)键合的,在那里可能的情况中。举例而非限制,碳键合的杂环或杂芳基在吡啶的2、3、4、5或6位,哒嗪的3、4、5或6位,嘧啶的2、4、5或6位,吡嗪的2、3、5或6位,呋喃、四氢呋喃、硫代呋喃(thiofuran)、噻吩、吡咯或四氢吡咯的2、3、4或5位,噁唑、咪唑或噻唑的2、4或5位,异噁唑、吡唑或异噻唑的

3、4 或 5 位，氮丙啶的 2 或 3 位，吖丁啶的 2、3 或 4 位，喹啉的 2、3、4、5、6、7 或 8 位，或异喹啉的 1、3、4、5、6、7 或 8 位处键合。

[0594] 举例而非限制，氮键合的杂环或杂芳基在氮丙啶、吖丁啶、吡咯、吡咯烷、2- 吡咯啉、3- 吡咯啉、咪唑、咪唑烷、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、二氢吲哚、1H- 吲唑的 1 位，异吲唑或异二氢吲哚的 2 位，吗啉的 4 位，和咔唑或 β - 咔啉的 9 位处键合。

[0595] “亚烷基”指 1-18 个碳原子且具有两个单价基心 (radical center)(通过从亲本烃的同一碳原子或两个不同碳原子除去两个氢原子而衍生的) 的饱和的、分支的或直链的或环状的烃基。典型的亚烃基包括但不限于 :亚甲基 (-CH2-)、1,2- 乙基 (亚乙基) (-CH2CH2-)、1,3- 丙基 (亚丙基)(-CH2CH2CH2-)、1,4- 丁基 (亚丁基)(-CH2CH2CH2CH2-)、等等。

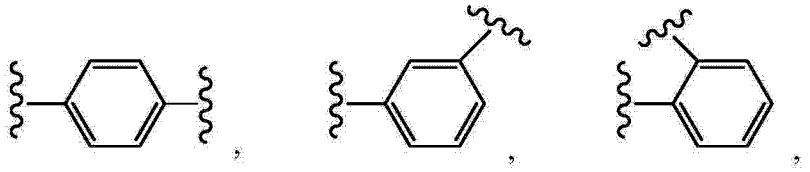
[0596] “C_1-C_{10} 亚烷基”指通式 -$(CH_2)_{1-10}$- 的直链、饱和烃基。C_1-C_{10} 亚烃基的实例包括亚甲基、亚乙基、亚丙基、亚丁基、亚戊基、亚己基、亚庚基、亚辛基、亚壬基和亚癸基。

[0597] “亚烯基”指 2-18 个碳原子且具有两个单价基心 (radical center)(通过从亲本烯烃的同一碳原子或两个不同碳原子除去两个氢原子而衍生的) 的不饱和的、分支的或直链的或环状的烃基。典型的亚烯基包括但不限于 :1,2- 亚乙烯基 (-CH = CH-)。

[0598] “亚炔基”指指 2-18 个碳原子且具有两个单价基心 (radical center)(通过从亲本炔烃的同一碳原子或两个不同碳原子除去两个氢原子而衍生的) 的不饱和的、分支的或直链的或环状的烃基。典型的亚炔基包括但不限于 :亚乙炔基 (-C ≡ C-)、亚丙炔基 (-CH_2C ≡ C-) 和 4- 亚戊炔基 (-$CH_2CH_2CH_2$C ≡ C-)。

[0599] “亚芳基”指具有两个共价键且可以是邻位、间位或对位构型的芳基，如下述结构所示 :

[0600]



[0601] 其中苯基可以是未取代的，或者是被至多四个下述基团取代的，包括但不限于 -C_1-C_8 烃基、-O-(C_1-C_8 烃基)、- 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)$_2$R’、-S(O)R’、-OH、- 卤素、-N_3、-NH_2、-NH(R’)、-N(R’)$_2$ 和 -CN ;其中每个 R’ 独立选自 H、-C_1-C_8 烃基和芳基。

[0602] “芳烃基”指键合至碳原子 (通常是末端或 sp^3 碳原子) 的氢原子之一被芳基取代的非环烃基。典型的芳烃基包括但不限于苄基、2- 苯基乙烷 -1- 基、2- 苯基乙烯 -1- 基、萘甲基、2- 萘基乙烷 -1- 基、2- 萘基乙烯 -1- 基、萘并苄基、2- 萘并苯基乙烷 -1- 基等等。芳烃基包含 6-20 个碳原子，例如芳烃基的烃基模块 (包括烷基、烯基或炔基) 是 1-6 个碳原子，芳基模块是 5-14 个碳原子。

[0603] “杂芳烃基”指键合至碳原子 (通常是末端或 sp^3 碳原子) 的氢原子之一被杂芳基取代的非环烃基。典型的杂芳烃基包括但不限于 2- 苯并咪唑基甲基、2- 呋喃基乙基、等等。杂芳烃基包含 6-20 个碳原子，例如杂芳烃基的烃基模块 (包括烷基、烯基或炔基) 是 1-6

个碳原子，杂芳基模块是 5-14 个碳原子和 1-3 个选自 N、O、P 和 S 的杂原子。杂芳烃基的杂芳基模块可以是具有 3-7 个环成员（2-6 个碳原子和 1-3 个选自 N、O、P 和 S 的杂原子）的单环或具有 7-10 个环成员（4-9 个碳原子和 1-3 个选自 N、O、P 和 S 的杂原子）的双环，例如双环 [4,5]、[5,5]、[5,6] 或 [6,6] 体系。

[0604] 术语“前体药物”在用于本申请时指与亲本化合物或药物相比对细胞的细胞毒性较小并能够酶促或水解活化或转变为更具活性亲本形式的本发明化合物的前体或衍生物形式。参见例如 Wilman，“Prodrugs in Cancer Chemotherapy”，Biochemical Society Transactions，14，pp.375-382，615th Meeting Belfast(1986) 和 Stella 等，“Prodrugs:A Chemical Approach to Targeted Drug Delivery”，Directed Drug Delivery，Borchardt 等，编，pp.247-267，Humana Press(1985)。本发明的前体药物包括但不限于含磷酸盐 / 酯前体药物、含硫代磷酸盐 / 酯前体药物、含硫酸盐 / 酯前体药物、含肽前体药物、D- 氨基酸修饰前体药物、糖基化前体药物、含 β - 内酰胺前体药物、含任选取代苯氧基乙酰胺的前体药物、含任选取代苯乙酰胺的前体药物、可转化为更具活性而无细胞毒性的药物的 5- 氟胞嘧啶和其它 5- 氟尿苷前体药物。可衍生为本发明使用的前体药物形式的细胞毒性药物的例子包括但不限于本发明的化合物和化疗剂（诸如上文所描述的）。

[0605] “代谢物”指特定化合物或其盐在身体中经由代谢生成的产物。化合物的代谢物可以使用本领域已知的常规技术来鉴定，而且它们的活性可以使用诸如本文中所描述的测试来测定。此类产物可能源自例如所施用化合物的氧化、还原、水解、酰胺化、脱酰胺、酯化、脱酯、酶促切割、等等。因而，本发明包括本发明化合物的代谢物，包括通过如下过程生成的化合物，所述过程包括使本发明的化合物接触哺乳动物一段时间，该段时间足以生成其代谢产物。

[0606] “脂质体”指由各种类型的脂质、磷脂和 / 或表面活性剂构成的，可用于对哺乳动物投递药物的小囊泡。脂质体的成分通常排列成双层形式，与生物膜的脂质排列相似。

[0607] “接头”指包含将抗体共价附着于药物模块的共价键或原子链的化学模块。在各个实施方案中，接头包括诸如烃基二基、芳基二基、杂芳基二基的二价基，诸如 $-(CR_2)_nO(CR_2)_n-$ 的模块，烃基氧（例如聚乙烯氧、PEG、聚亚甲基氧）和烃基氨基（例如聚乙烯氨基、Jeffamine™）的重复单元；及二酸酯和酰胺，包括琥珀酸酯、琥珀酰胺、二乙醇酸酯、丙二酸酯和己酰胺 (caproamide)。

[0608] 术语“手性”指分子具有镜像对映体不可重叠的特性，而术语“非手性”指分子可重叠于其镜像对映体上。

[0609] 术语“立体异构体”指具有相同的化学结构，但是在原子或基团的空间排列方面有所不同的化合物。

[0610] “非对映异构体”指具有两个或多个手性中心且其分子彼此不为镜像对映体的空间异构体。非对映体具有不同的物理特性，例如熔点、沸点、光谱特征和反应性。非对映异构体的混合物可以在高分辨力的分析规程下分开，诸如电泳和层析。

[0611] “对映异构体”指化合物的彼此为不可重叠镜像的两种空间异构体。

[0612] 本文中所使用的立体化学定义和规则一般遵循 S.P.Parker，Ed.，McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms(1984)McGraw-Hill Book Company，New York；及 Eliel，E.and Wilen，S.，Stereochemistry of Organic Compounds(1994)John

Wiley&Sons,Inc.,New York。许多有机化合物以旋光型存在,即它们具有旋转平面偏振光的平面的能力。在描述旋光性化合物时,使用前缀 D 和 L,或者 R 和 S 来表示分子关于其手性中心的绝对构型。采用前缀 d 和 l 或者 (+) 和 (-) 来指示化合物对平面偏振光的旋转,(-) 或 l 意味着化合物是左旋的。带有前缀 (+) 或 d 的化合物是右旋的。对于给定的化学结构,这些立体异构体是相同的,只是它们互为镜像。特定的立体异构体还可以称为对映异构体,而且此类异构体的混合物常常称为对映混合物。对映异构体的 50:50 混合物称为外消旋混合物或外消旋物,其可以在化学反应或过程中没有立体选择或立体特异性时发生。术语“外消旋混合物”和“外消旋物”指两种对映异构体的等摩尔混合物,其没有旋光性。

[0613] 术语“互变异构体”或“互变异构体形式”指具有不同能量的结构同分异构体,它们经由低能障可互变。例如,质子互变异构体(也称作质子移变互变异构体)包括经由质子迁移发生的互变,诸如酮 - 烯醇和亚胺 - 烯胺异构化。化合价互变异构体包括通过一些成键电子的重新组织发生的互变。

[0614] 短语“药学可接受盐”在用于本文时指本发明化合物的药学可接受的有机或无机盐。例示性的盐包括但不限于硫酸盐、柠檬酸盐、乙酸盐、草酸盐、氯化物、溴化物、碘化物、硝酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、酸式磷酸盐、异烟酸盐、乳酸盐、水杨酸盐、酸式柠檬酸盐、酒石酸盐、油酸盐、丹宁酸盐、泛酸盐、酒石酸氢盐、抗坏血酸盐、琥珀酸盐、马来酸盐、龙胆酸盐、富马酸盐、葡糖酸盐、葡糖醛酸盐、糖酸盐、甲酸盐、苯甲酸盐、谷氨酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐和扑酸盐(即 1,1'- 亚甲基 - 双 (2- 羟基 -3- 萘甲酸盐))。药学可接受盐可能牵涉包含另一种分子,诸如乙酸盐离子、琥珀酸盐离子或其它抗衡离子。抗衡离子可以是稳定母体化合物电荷的任何有机或无机模块。另外,药学可接受盐可以在其结构中具有超过一种带电荷原子。在多种带电荷原子作为药学可接受盐的组成部分的情况中可以具有多种抗衡离子。因此,药学可接受盐可具有一种或多种带电荷原子和 / 或一种或多种抗衡离子。

[0615] 如果本发明的化合物是碱,那么期望的药学可接受的盐可以通过本领域可得的任何合适方法来制备,例如用无机酸(诸如氢氯酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、甲磺酸、磷酸等等)或用有机酸(诸如乙酸、三氟乙酸、马来酸、琥珀酸、扁桃酸、富马酸 / 延胡索酸、丙二酸、丙酮酸、草酸、乙醇酸、水杨酸、吡喃糖苷酸 (pyranosidyl acid)(诸如葡萄糖醛酸或半乳糖醛酸)、α 羟酸(诸如柠檬酸或酒石酸)、氨基酸(诸如天冬氨酸或谷氨酸)、芳香酸(诸如苯甲酸或肉桂酸)、磺酸(诸如对甲苯磺酸或乙磺酸)、等等)处理游离碱。

[0616] 如果本发明的化合物是酸,那么期望的药学可接受的盐可以通过任何合适方法来制备,例如用无机或有机碱(诸如胺(伯、仲或叔))、碱金属氢氧化物或碱土金属氢氧化物、等等处理游离酸。合适的盐的例示性例子包括但不限于自氨基酸(诸如甘氨酸和精氨酸)、铵、伯 / 仲 / 叔胺和环胺(诸如哌啶、吗啉和哌嗪)衍生的有机盐,和自钠、钙、钾、镁、锰、铁、铜、锌、铝和锂衍生的无机盐。

[0617] 短语“药学可接受的”指明该物质或组合物必须是在化学和 / 或毒理学方面与构成配制剂的其它成分和 / 或用它治疗的哺乳动物相容的。

[0618] “溶剂合物”指一个或多个溶剂分子与本发明化合物的缔合物或复合物。形成溶剂合物的溶剂的例子包括但不限于水、异丙醇、乙醇、甲醇、DMSO、乙酸乙酯、乙酸和乙醇胺。术语“水合物”指其中的溶剂分子是水的复合物。

[0619] 术语“保护基团”指常用于在与化合物上的其它官能团起反应的同时封闭或保护特定官能度的取代基。例如“氨基保护基团”指附着至化合物中的氨基并阻断或保护氨基官能度的取代基。合适的氨基保护基团包括乙酰基、三氟乙酰基、叔-丁氧羰基(BOC)、苄氧羰基(CBZ)和9-芴甲氧羰基(Fmoc)。类似的,“羟基保护基团”指附着至阻断或保护羟基官能度的羟基取代基。合适的保护基团包括乙酰基和甲硅烷基。“羧基保护基团”指附着至阻断或保护羧基官能度的羟基取代基。常用的羧基保护基团包括苯基磺酰基乙基、氰乙基、2-(三甲基甲硅烷基)乙基、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基、2-(对甲苯磺酰基)乙基、2-(对硝基苯基亚磺酰基)乙基、2-(联苯基膦基)-乙基、硝基乙基等等。关于保护基团及其用途的一般性说明参见T.W.Greene,Protective Groups in Organic Synthesis,John Wiley&Sons,New York,1991。

[0620] “离去基团”指可以被另一官能基取代的官能基。某些离去基团是本领域公知的,实例包括但不限于卤化物(例如氯化物、溴化物、碘化物)、甲基磺酰基(甲磺酰基)、对甲苯磺酰基(甲苯磺酰基)、三氟甲基磺酰基(triflate)和三氟甲基磺酸根。

[0621] 缩写

[0622] 接头组件:

[0623] MC=6-马来酰亚氨基己酰基

[0624] Val-Cit或“vc”=缬氨酸-瓜氨酸(蛋白酶可切割接头中的例示二肽)

[0625] 瓜氨酸=2-氨基-5-脲基戊酸

[0626] PAB=对氨基苯甲基氧羰基(“自我牺牲”接头构件的例示)

[0627] Me-Val-Cit=正甲基-缬氨酸-瓜氨酸(其中接头肽键已经修饰以防止其受到组织蛋白酶B的切割)

[0628] MC(PEG)6-OH=马来酰亚氨基己酰基-聚乙二醇(可附着于抗体半胱氨酸)。细胞毒性药物:

[0629] MMAE=单甲基auristatin E(MW 718)

[0630] MMAF=auristatin E(MMAE)的变体,其在药物的C-末端处有苯丙氨酸(MW731.5)

[0631] MMAF-DMAEA=有DMAEA(二甲基氨基乙胺)以酰胺连接至C-末端苯丙氨酸的MMAF(MW 801.5)

[0632] MMAF-TEG=有四乙二醇酯化至苯丙氨酸的MMAF

[0633] MMAF-NtBu=正叔丁基作为酰胺附着于MMAF的C-末端

[0634] DM1=N(2')-脱乙酰基-N(2')-(3-巯基-1-氧丙基)-美登素

[0635] DM3=N(2')-脱乙酰基-N2-(4-巯基-1-氧戊基)-美登素

[0636] DM4=N(2')-脱乙酰基-N2-(4-巯基-4-甲基-1-氧戊基)-美登素

[0637] 别的缩写如下:AE指auristatin E;Boc指正(叔丁氧羰基);cit指瓜氨酸;dap指dolaproine;DCC指1,3-二环己基碳二亚胺;DCM指二氯甲烷;DEA指二乙胺;DEAD指二乙基偶氮二羧酸根;DEPC指二乙基磷酰基氰酸根;DIAD指二异丙基偶氮二羧酸根;DIEA指N,n-二异丙基乙胺;dil指dolaisoleucine;DMA指二甲基乙酰胺;DMAP指4-二甲基氨基吡啶;DME指乙二醇二甲基醚(或1,2-二甲氧乙烷);DMF指N,n-二甲基甲酰胺;DMSO指二甲基亚砜;doe指dolaphenine;dov指N,n-二甲基缬氨酸;DTNB指5,5'-二硫双(2-硝基苯甲酸);DTPA指二乙烯三胺五乙酸;DTT指二硫苏糖醇;EDCI指1-(3-二甲基氨基丙

基)-3- 乙基碳二亚胺氢氯化物 ;EEDQ 指 2- 乙氧基 -1- 乙氧羰基 -1,2- 二氢喹啉 ;ES-MS 指电喷雾质谱 ;EtOAc 指乙酸乙酯 ;Fmoc 指正 -(9- 芴基甲氧羰基) ;gly 指甘氨酸 ;HATU 指 O-(7- 氮杂苯并三唑 -1- 基)-N,N,N',N'- 四甲基脲六氟磷酸酯 ;HOBt 指 1- 羟基苯并三唑 ;HPLC 指高压液相层析 ;ile 指异亮氨酸 ;lys 指赖氨酸 ;MeCN(CH_3CN) 指乙腈 ;MeOH 指甲醇 ;Mtr 指 4- 茴香基联苯基甲基 (或 4- 甲氧基三苯甲基) ;nor 指 (1S ;2R)-(+)- 去甲麻黄碱 ;PBS 指磷酸盐缓冲盐水 (pH 7.4) ;PEG 指聚乙二醇 ;Ph 指苯基 ;Pnp 指对硝基苯基 ;MC 指 6- 马来酰亚氨基己酰基 ;phe 指 L- 苯丙氨酸 ;PyBrop 指溴三吡咯烷膦六氟磷酸酯 ;SEC 指大小排阻层析 ;Su 指琥珀酰亚胺 ;TFA 指三氟乙酸 ;TLC 指薄层层析 ;UV 指紫外线 ;而 val 指缬氨酸。

[0638] “游离半胱氨酸”指已经工程改造入亲本抗体的、具有硫醇官能基 (-SH) 的、且没有配对成为分子内或分子间二硫桥的半胱氨酸残基。

[0639] 术语“硫醇反应性值 (thio reactivity value)”是游离半胱氨酸氨基酸的反应性的定量表征。硫醇反应性值指经过半胱氨酸工程改造的抗体中与硫醇反应性试剂反应的游离半胱氨酸氨基酸的百分比,且换算成最大值 1。例如,经过半胱氨酸工程改造的抗体上与硫醇反应性试剂 (诸如生物素 - 马来酰亚胺试剂) 以 100% 产率反应 (以形成生物素标记的抗体) 的游离半胱氨酸氨基酸具有 1.0 的硫醇反应性值。已工程改造入相同或不同亲本抗体、与硫醇反应性试剂以 80% 产率反应的另一个半胱氨酸氨基酸具有 0.8 的硫醇反应性值。已工程改造入相同或不同亲本抗体、完全不能与硫醇反应性试剂反应的另一个半胱氨酸氨基酸具有 0 的硫醇反应性值。特定半胱氨酸的硫醇反应性值的测定可以通过 ELISA 测定法、质谱、液相层析、放射自显影或其它定量分析测试来进行。

[0640] “亲本抗体”指包含其中一个或多个氨基酸残基有待用一个或多个半胱氨酸残基替换的氨基酸序列的抗体。亲本抗体可以包含天然的或野生型的序列。亲本抗体可具有相对于其它天然的、野生型的或修饰形式的抗体而言的现有氨基酸序列修饰 (诸如添加、删除和 / 或替代)。亲本抗体可以针对感兴趣的靶抗原,例如生物学重要的多肽。还涵盖针对非多肽抗原 (诸如肿瘤相关糖脂抗原 ;参见 US 5091178) 的抗体。

[0641] 表 1

[0642]

```
/*
 *
 * 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}
};
```

[0643] Table 1(cont')

[0644]

```
/*
 */
#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();
```

[0645] Table 1(cont')

[0646]

```
/* 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 */}
```

[0647] Table 1(cont')

[0648]

```
/* 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;
                }
```

[0649] Table 1(cont')

[0650]

...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;
```

[0651] Table 1(cont')

[0652]

```
                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);              }
```

[0653] Table 1(cont')

[0654]

```
/*
 *
 * 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();     }
```

[0655] Table 1(cont')

[0656]

```
/*
  * trace back the best path, count matches
  */
static
getmat(lx, ly, firstgap, lastgap)                                                    getmat
        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);
```

[0657] Table 1(cont')

[0658]

```
        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];         }
```

[0659] Table 1(cont')

[0660]

```
        for (nn = nm = 0, more = 1; more; ) {                                   ...pr_align
                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()                                                                     dumpblock
{
        register i;
        for (i = 0; i < 2; i++)
                *po[i]-- = '\0';
```

[0661] Table 1(cont')

[0662]

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

[0663] Table 1(cont')

[0664]

```
                                                                                ..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';
}
```

[0665] Table 1(cont')

[0666]

```
/*
 * 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));

}
```

[0667] Table 1(cont')

[0668]

```
/*
  * 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';
```

[0669] Table 1(cont')

[0670]

```
                                                                                ...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(msg, nx, sz)                                                           g_calloc
        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--)
                                ;
```

[0671] Table 1(cont')

[0672]

...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;
                                        }                       }
```

[0673] Table 1(cont')

[0674]

```
/*
 * 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);
}
```

[0675] III. 本发明的组合物和方法

[0676] 本发明提供了抗 CD79b 抗体或其功能性片段，及其在造血肿瘤治疗中的使用方法。

[0677] 一方面，本发明提供了一种与任何上文或下文所述多肽结合（优选特异性结合）的抗体。任选的是，所述抗体是单克隆抗体、抗体片段（包括 Fab、Fab'、$F(ab')_2$ 和 Fv 片段）、双抗体、单域抗体、嵌合抗体、人源化抗体、单链抗体或竞争性抑制抗 CD79b 多肽抗体结合其相应抗原性表位的抗体。本发明的抗体可任选偶联至生长抑制剂或细胞毒剂，诸如毒素，包括例如 auristatin、美登木素生物碱、多拉司他汀衍生物或加利车霉素、抗生素、放射性同位素、溶核酶、诸如此类。本发明的抗体可任选在 CHO 细胞或细菌细胞中生成，且优选诱导它们所结合的细胞死亡。出于检测目的，本发明的抗体可以是可检测标记的，附着至固体支持物的，诸如此类。

[0678] 一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中该抗体对 CD79b 的单价亲和力（例如 Fab 片段形式的抗体对 CD79b 的亲和力）与鼠抗体（例如 Fab 片段形式的鼠抗体对 CD79b 的亲和力）或嵌合抗体（例如 Fab 片段形式的嵌合抗体对 CD79b 的亲和力）的单价亲和力基本上相同，所述鼠抗体或嵌和抗体包含图 7A-7B(SEQ ID NO:10) 和图 8A-8B(SEQ ID NO:14) 所示轻链和重链可变域序列，由图 7A-7B(SEQ ID NO:10) 和图 8A-8B(SEQ ID NO:14) 所示轻链和重链可变域序列组成，或基本上由图 7A-7B(SEQ ID NO:10) 和图 8A-8B(SEQ ID NO:14) 所示轻链和重链可变域序列组成。

[0679] 另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中该抗体对 CD79b 的单价亲和力（例如 Fab 片段形式的抗体对 CD79b 的亲和力）比鼠抗体（例如 Fab 片段形式的鼠抗体对 CD79b 的亲和力）或嵌合抗体（例如 Fab 片段形式的嵌合抗体对 CD79b 的亲和力）的单价亲和力低，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，所述鼠抗体或嵌和抗体包含图 7A-7B(SEQ ID NO:10) 和图 8A-8B(SEQ ID NO:14) 所示轻链和重链可变域序列，由图 7A-7B(SEQ ID NO:10) 和图 8A-8B(SEQ ID NO:14) 所示轻链和重链可变域序列组成，或基本上由图 7A-7B(SEQ ID NO:10) 和图 8A-8B(SEQ ID NO:14) 所示轻链和重链可变域序列组成。

[0680] 另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中该抗体对 CD79b 的单价

亲和力（例如 Fab 片段形式的抗体对 CD79b 的亲和力）比鼠抗体（例如 Fab 片段形式的鼠抗体对 CD79b 的亲和力）或嵌合抗体（例如 Fab 片段形式的嵌合抗体对 CD79b 的亲和力）的单价亲和力高，例如高至少 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 倍，所述鼠抗体或嵌和抗体包含图 7A-7B(SEQ ID NO:10) 和图 8A-8B(SEQ ID NO:14) 所示轻链和重链可变域序列，由图 7A-7B(SEQ ID NO:10) 和图 8A-8B(SEQ ID NO:14) 所示轻链和重链可变域序列组成，或基本上由图 7A-7B(SEQ ID NO:10) 和图 8A-8B(SEQ ID NO:14) 所示轻链和重链可变域序列组成。

[0681] 一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）与二价形式的鼠抗体（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）或嵌合抗体（例如 Fab 片段形式的嵌合抗体对 CD79b 的亲和力）的亲和力基本上相同，所述鼠抗体或嵌和抗体包含图 7A-7B(SEQ ID NO:10) 和图 8A-8B(SEQ ID NO:14) 所示轻链和重链可变域序列，由图 7A-7B(SEQ ID NO:10) 和图 8A-8B(SEQ ID NO:14) 所示轻链和重链可变域序列组成，或基本上由图 7A-7B(SEQ ID NO:10) 和图 8A-8B(SEQ ID NO:14) 所示轻链和重链可变域序列组成。

[0682] 另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）比二价形式的鼠抗体（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）或嵌合抗体（例如 IgG 片段形式的嵌合抗体对 CD79b 的亲和力）的亲和力低，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，所述鼠抗体或嵌和抗体包含图 7A-7B(SEQ ID NO:10) 和图 8A-8B(SEQ ID NO:14) 所示轻链和重链可变域序列，由图 7A-7B(SEQ ID NO:10) 和图 8A-8B(SEQ ID NO:14) 所示轻链和重链可变域序列组成，或基本上由图 7A-7B(SEQ ID NO:10) 和图 8A-8B(SEQ ID NO:14) 所示轻链和重链可变域序列组成。

[0683] 另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）比二价形式的鼠抗体（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）或嵌合抗体（例如 IgG 片段形式的嵌合抗体对 CD79b 的亲和力）的亲和力高，例如高至少 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 倍，所述鼠抗体或嵌和抗体包含图 7A-7B(SEQ ID NO:10) 和图 8A-8B(SEQ ID NO:14) 所示轻链和重链可变域序列，由图 7A-7B(SEQ ID NO:10) 和图 8A-8B(SEQ ID NO:14) 所示轻链和重链可变域序列组成，或基本上由图 7A-7B(SEQ ID NO:10) 和图 8A-8B(SEQ ID NO:14) 所示轻链和重链可变域序列组成。

[0684] 另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）是 0.4nM。在另一个方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）是 0.4nM+/-0.04。

[0685] 另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）是 0.3nM 或更好。另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）是 0.32nM 或更好。另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b

的亲和力）是 0.36nM 或更好。另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）是 0.4nM 或更好。另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）是 0.44nM 或更好。另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）是 0.48nM 或更好。另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）是 0.5nM 或更好。另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）是介于 0.3nM 和 0.5nM 之间。另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）介于 0.32nM 和 0.48nM 之间。另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）介于 0.36nM 和 0.44nM 之间。

[0686] 另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）是 0.2nM。在又一个方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）是 0.2nM+/-0.02。

[0687] 另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）是 0.1nM 或更好。另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）是 0.12nM 或更好。另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）是 0.14nM 或更好。另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）是 0.16nM 或更好。另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）是 0.18nM 或更好。另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）是 0.2nM 或更好。另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）是 0.22nM 或更好。另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）是 0.24nM 或更好。另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）是 0.26nM 或更好。另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）是 0.28nM 或更好。另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）是 0.30nM 或更好。另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）介于 0.1nM 和 0.3nM 之间。另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和

力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）介于 0.12nM 和 0.28nM 之间。另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）介于 0.14nM 和 0.26nM 之间。另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）介于 0.16nM 和 0.24nM 之间。另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）介于 0.18nM 和 0.22nM 之间。

[0688] 另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）是 0.5nM。在又一个方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）是 0.5nM+/-0.1。

[0689] 另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）是 0.4nM 或更好。另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）是 0.5nM 或更好。另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）是 0.6nM 或更好。另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）是 0.7nM 或更好。另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）介于 0.3nM 和 0.7nM 之间。另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）介于 0.4nM 和 0.6nM 之间。另一方面，本发明提供了一种人源化抗 CD79b 抗体，其中二价形式的该抗体对 CD79b 的亲和力（例如 IgG 形式的抗体对 CD79b 的亲和力）介于 0.5nM 和 0.55nM 之间。

[0690] 一方面，所述鼠抗体对 CD79b 的单价亲和力与包含可变域序列 SEQ ID NO:10（图 7A-7B）和 SEQ ID NO:14（图 8A-8B）的 Fab 片段的结合亲和力基本上相同。另一方面，所述鼠抗体对 CD79b 的单价亲和力与包含下述抗体（所述抗体是自 1993 年 7 月 20 日保藏于 ATCC 的杂交瘤 HB11413 生成的）的可变域序列的 Fab 片段或包含下述抗体（所述抗体是自 1993 年 7 月 20 日保藏于 ATCC 的杂交瘤 HB11413 生成的）的可变域的嵌合抗体的结合亲和力基本上相同。

[0691] 如本领域中所完善确立的，配体对其受体的结合亲和力可以使用多种测定法之任一种来测定，并以多种定量数值表示。因而，在一个实施方案中，结合亲和力以 Kd 值表示，并反映内在结合亲和力（例如具有最小化的亲合效应）。一般且优选地，结合亲和力是在体外测量的，无论在无细胞的或细胞相关的环境中。如本文中更为详细描述的，结合亲和力的倍数差异可根据人源化抗体（例如以 Fab 形式）的单价结合亲和力数值和参照 / 比较抗体（例如以 Fab 形式）（例如具有供体高变区序列的鼠抗体）的单价结合亲和力数值的比率量化，其中所述结合亲和力数值是在相似测定条件下测定的。如此，在一个实施方案中，结合亲和力的倍数差异是作为 Fab 形式人源化抗体和所述参比 / 比较 Fab 抗体的 Kd 值比率测定。例如，在一个实施方案中，如果本发明抗体 (A) 具有比参比抗体 (M) 的亲和力“低

3 倍”的亲和力，那么 A 的 Kd 值是 3x，M 的 Kd 值是 1x，而 A 的 Kd 对 M 的 Kd 的比率是 3:1。相反，在一个实施方案中，如果本发明抗体 (C) 具有比参比抗体 (R) 的亲和力“高 3 倍”的亲和力，那么 C 的 Kd 值是 1x，R 的 Kd 值是 3x，而 C 的 Kd 对 R 的 Kd 的比率是 1:3。本领域已知的许多测定法中的任一种，包括那些本文所描述的，都可用于获取结合亲和力测量，包括例如 Biacore、放射免疫测定法 (RIA) 和 ELISA。

[0692] 一方面，提供了一种与 CD79b 结合的抗体，其中该抗体包含：

[0693] (a) 至少一种、两种、三种、四种、五种或六种选自下组的 HVR：

[0694] (i)HVR-L1，其包含序列 A1-A15，其中 A1-A15 是 KASQSVDYDGDSFLN(SEQ ID NO:131)

[0695] (ii)HVR-L2，其包含序列 B1-B7，其中 B1-B7 是 AASNLES(SEQ ID NO:132)

[0696] (iii)HVR-L3，其包含序列 C1-C9，其中 C1-C9 是 QQSNEDPLT(SEQ ID NO:133)

[0697] (iv)HVR-H1，其包含序列 D1-D10，其中 D1-D10 是 GYTFSSYWIE(SEQ ID NO:134)

[0698] (v)HVR-H2，其包含序列 E1-E18，其中 E1-E18 是 GEILPGGGDTNYNEIFKG(SEQ ID NO:135) 和

[0699] (vi)HVR-H3，其包含序列 F1-F10，其中 F1-F10 是 TRRVPVYFDY(SEQ ID NO:136)。

[0700] 在一个实施方案中，本发明抗体的 HVR-L1 包含序列 SEQ ID NO:131。在一个实施方案中，本发明抗体的 HVR-L2 包含序列 SEQ ID NO:132。在一个实施方案中，本发明抗体的 HVR-L3 包含序列 SEQ ID NO:133。在一个实施方案中，本发明抗体的 HVR-H1 包含序列 SEQ ID NO:134。在一个实施方案中，本发明抗体的 HVR-H2 包含序列 SEQ ID NO:135。在一个实施方案中，本发明抗体的 HVR-H3 包含序列 SEQ ID NO:136。在一个实施方案中，包含这些序列（以本文所述方式组合的）的本发明抗体是人源化的或人的。

[0701] 一方面，提供了一种与 CD79b 结合的抗体，其中该抗体包含：

[0702] (a) 至少一种、两种、三种、四种、五种或六种选自下组的 HVR：

[0703] (i)HVR-L1，其包含序列 A1-A15，其中 A1-A15 是 KASQSVDYDGDSFLN(SEQ ID NO:131)

[0704] (ii)HVR-L2，其包含序列 B1-B7，其中 B1-B7 是 AASNLES(SEQ ID NO:132)

[0705] (iii)HVR-L3，其包含序列 C1-C9，其中 C1-C9 是 QQSNEDPLT(SEQ ID NO:133)

[0706] (iv)HVR-H1，其包含序列 D1-D10，其中 D1-D10 是 GYTFSSYWIE(SEQ ID NO:134)

[0707] (v)HVR-H2，其包含序列 E1-E18，其中 E1-E18 是 GEILPGGGDTNYNEIFKG(SEQ ID NO:135) 和

[0708] (vi)HVR-H3，其包含序列 F1-F10，其中 F1-F10 是 TRRVPVYFDY(SEQ ID NO:136)；和

[0709] (b) 至少一种变异 HVR，其中所述变异 HVR 序列包含 SEQ ID NO:131、132、133、134、135 或 136 的所示序列中的至少一个残基的修饰。

[0710] 在一个实施方案中，本发明抗体的 HVR-L1 包含序列 SEQ ID NO:131。在一个实施方案中，本发明抗体的 HVR-L2 包含序列 SEQ ID NO:132。在一个实施方案中，本发明抗体的 HVR-L3 包含序列 SEQ ID NO:133。在一个实施方案中，本发明抗体的 HVR-H1 包含序列 SEQ ID NO:134。在一个实施方案中，本发明抗体的 HVR-H2 包含序列 SEQ ID NO:135。在一个实施方案中，本发明抗体的 HVR-H3 包含序列 SEQ ID NO:136。在一个实施方案中，包含这些序列（以本文所述方式组合的）的本发明抗体是人源化的或人的。

[0711] 一方面，本发明提供了包含一种、两种、三种、四种、五种或六种 HVR 的抗体，其中每种 HVR 包含选自下组的序列、由选自下组的序列组成或基本上由选自下组的序列组成：SEQ ID NO:131、132、133、134、135 和 136，且其中 SEQ ID NO:131 对应于 HVR-L1，SEQ ID NO:132 对应于 HVR-L2，SEQ ID NO:133 对应于 HVR-L3，SEQ ID NO:134 对应于 HVR-H1，SEQ ID NO:135 对应于 HVR-H2，而 SEQ ID NO:136 对应于 HVR-H3。在一个实施方案中，本发明的抗体包含 HVR-L1、HVR-L2、HVR-L3、HVR-H1、HVR-H2 和 HVR-H3，其中每个依次包含 SEQ ID NO:131、132、133、134、135 和 136。

[0712] 本发明抗体中的变异 HVR 可具有该 HVR 内一个或多个残基的修饰。在一个实施方案中，HVR-L1 变体在下列位置中包含一处替代：A4(K)、A9(E 或 S) 和 A10(A 或 S)。在一个实施方案中，HVR-L2 变体在下列位置的任何一个或组合中包含 1-5(1、2、3、4 或 5) 处替代：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) 和 B7(R、N、T 或 G)。在一个实施方案中，HVR-L3 变体在下列位置的任何一个或组合中包含 1-4(1、2、3 或 4) 处替代：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) 和 C9(N)。在一个实施方案中，HVR-H1 变体在下列位置的任何一个或组合中包含 1-7(1、2、3、4、5、6 或 7) 处替代：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) 和 D10(S、Q、N 或 D)。在一个实施方案中，HVR-H3 变体在下列位置的任何一个或组合中包含 1-3(1、2 或 3) 处替代：F4(R 或 I)、F6(I 或 F)、F7(K、C、R、V 或 F)、F8(L)，和 F9(S)。每个位置后面的括号中的字母指明例示性的替代（即替换）氨基酸；正如对本领域技术人员显而易见的是，其它氨基酸作为本文所述背景中替代氨基酸的合适性可以使用本领域已知的和 / 或本文中描述的技术例行评估。在一个实施方案中，变异 HVR-L1 中的 A9 是 E。在一个实施方案中，变异 HVR-H3 中的 F6 是 I。在一个实施方案中，变异 HVR-H3 中的 F7 是 R。在一个实施方案中，变异 HVR-H3 中的 F8 是 L。在一个实施方案中，本发明的抗体包含变异 HVR-H3，其中 F6 是 I、F7 是 R 且 F8 是 L。在一个实施方案中，本发明的抗体包含变异 HVR-L1（其中 A9 是 E) 和变异 HVR-H3（其中 F6 是 I、F7 是 R 且 F8 是 L)。在一个实施方案中，变异 HVR-L1 中的 A9 是 S。在一个实施方案中，本发明的抗体包含变异 HVR-L1（其中 A9 是 S) 和变异 HVR-H3（其中 F6 是 I、F7 是 R 且 F8 是 L)。

[0713] 在一个实施方案中，本发明的抗体包含变异 HVR-L1，其中 A4 是 K。在一些实施方案中，所述变异 HVR-L1 抗体进一步包含 HVR-L2、HVR-L3、HVR-H1、HVR-H2 和 HVR-H3，其中每个依次包含 SEQ ID NO:132、133、134、135 和 136 所示序列。在一些实施方案中，所述变异 HVR-L1 抗体进一步包含 HVR-L1 变体，其中 A9 是 E 或 S 和 / 或 A10 是 A 或 S。在一些实施方案中，所述变异 HVR-L1 抗体进一步包含 HVR-L3 变体，其中 C6 是 E 或 N 和 / 或 C7 是 A。在一些实施方案中，这些抗体进一步包含人亚组 III 重链框架共有序列。在这些抗体的一个实施方案中，所述框架共有序列包含第 71 位、第 73 位和 / 或第 78 位处的替代。在这些抗体的一些实施方案中，第 71 位是 A、第 73 位是 T 和 / 或第 78 位是 A。在这些抗体的一个实施方案中，这些抗体进一步包含人 κ I 轻链框架共有序列。在这些抗体的一些实施方案中，所述框架人 κ I 轻链框架共有序列包含第 4 位和 / 或第 47 位处的替代。在这些抗体的一些实施方案中，（人 κ I 轻链框架共有序列的）第 4 位是 L 和 / 或第 47 位是 F。在这些抗体的一个实施方案中，人亚组 III 重链框架共有序列包含第 48、67、69、71、73、75、78 和

/ 或 80 位处的替代。在这些抗体的一些实施方案中，（所述人亚组 III 重链框架共有序列的）第 48 位是 I、第 67 位是 A、第 69 位是 F、第 71 位是 A、第 73 位是 T、第 75 位是 S、第 78 位是 A 和 / 或第 80 位是 M。在这些抗体的一些实施方案中，这些抗体进一步包含人 κ I 轻链框架共有序列。在这些抗体的一个实施方案中，所述框架人 κ I 轻链框架共有序列包含第 4 位和 / 或第 47 位处的替代。在这些抗体的一些实施方案中，（人 κ I 轻链框架共有序列的）第 4 位是 L 和 / 或第 47 位是 F。

[0714] 在一个实施方案中，本发明的抗体包含变异 HVR-L2，其中 B3 是 R、B4 是 K、B6 是 G 且 B7 是 R。在一个实施方案中，本发明的抗体包含变异 HVR-L2，其中 B3 是 R、B4 是 Y、B6 是 K 且 B7 是 R。在一个实施方案中，本发明的抗体包含变异 HVR-L2，其中 B3 是 R、B4 是 K 且 B6 是 G。在一些实施方案中，所述变异 HVR-L2 抗体进一步包含 HVR-L1、HVR-L3、HVR-H1、HVR-H2 和 HVR-H3，其中每个依次包含 SEQ ID NO:131、133、134、135 和 136 所示序列。在一些实施方案中，所述变异 HVR-L2 抗体进一步包含 HVR-L1 变体，其中 A9 是 E 或 S 和 / 或 A10 是 A 或 S。在一些实施方案中，所述变异 HVR-L2 抗体进一步包含 HVR-L3 变体，其中 C6 是 E 或 N 和 / 或 C7 是 A。在一些实施方案中，这些抗体进一步包含人亚组 III 重链框架共有序列。在这些抗体的一个实施方案中，所述框架共有序列包含第 71 位、第 73 位和 / 或第 78 位处的替代。在这些抗体的一些实施方案中，第 71 位是 A、第 73 位是 T 和 / 或第 78 位是 A。在这些抗体的一个实施方案中，这些抗体进一步包含人 κ I 轻链框架共有序列。在这些抗体的一些实施方案中，所述框架人 κ I 轻链框架共有序列包含第 4 位和 / 或第 47 位处的替代。在这些抗体的一些实施方案中，（人 κ I 轻链框架共有序列的）第 4 位是 L 和 / 或第 47 位是 F。在这些抗体的一个实施方案中，所述人亚组 III 重链框架共有序列包含第 48、67、69、71、73、75、78 和 / 或 80 位处的替代。在这些抗体的一些实施方案中，（所述人亚组 III 重链框架共有序列的）第 48 位是 I、第 67 位是 A、第 69 位是 F、第 71 位是 A、第 73 位是 T、第 75 位是 S、第 78 位是 A 和 / 或第 80 位是 M。在这些抗体的一些实施方案中，这些抗体进一步包含人 κ I 轻链框架共有序列。在这些抗体的一个实施方案中，所述框架人 κ I 轻链框架共有序列包含第 4 位和 / 或第 47 位处的替代。在这些抗体的一些实施方案中，（人 κ I 轻链框架共有序列的）第 4 位是 L 和 / 或第 47 位是 F。

[0715] 在一个实施方案中，本发明的抗体包含变异 HVR-L3，其中 C5 是 K。在一个实施方案中，本发明的抗体包含变异 HVR-L3，其中 C5 是 S。在一些实施方案中，所述变异 HVR-L3 抗体进一步包含 HVR-L1、HVR-L2、HVR-H1、HVR-H2 和 HVR-H3，其中每个依次包含 SEQ ID NO:131、132、134、135 和 136 所示序列。在一些实施方案中，所述变异 HVR-L3 抗体进一步包含 HVR-L1 变体，其中 A9 是 E 或 S 和 / 或 A10 是 A 或 S。在一些实施方案中，所述变异 HVR-L3 抗体进一步包含 HVR-L3 变体，其中 C6 是 E 或 N 和 / 或 C7 是 A。在一些实施方案中，这些抗体进一步包含人亚组 III 重链框架共有序列。在这些抗体的一个实施方案中，所述框架共有序列包含第 71 位、第 73 位和 / 或第 78 位处的替代。在这些抗体的一些实施方案中，第 71 位是 A、第 73 位是 T 和 / 或第 78 位是 A。在这些抗体的一个实施方案中，这些抗体进一步包含人 κ I 轻链框架共有序列。在这些抗体的一些实施方案中，所述框架人 κ I 轻链框架共有序列包含第 4 位和 / 或第 47 位处的替代。在这些抗体的一些实施方案中，（人 κ I 轻链框架共有序列的）第 4 位是 L 和 / 或第 47 位是 F。在这些抗体的一个实施方案中，所述人亚组 III 重链框架共有序列包含第 48、67、69、71、73、75、78 和 / 或 80 位处的替代。在

这些抗体的一些实施方案中，（所述人亚组 III 重链框架共有序列的）第 48 位是 I、第 67 位是 A、第 69 位是 F、第 71 位是 A、第 73 位是 T、第 75 位是 S、第 78 位是 A 和 / 或第 80 位是 M。在这些抗体的一些实施方案中，这些抗体进一步包含人 κ I 轻链框架共有序列。在这些抗体的一个实施方案中，所述框架人 κ I 轻链框架共有序列包含第 4 位和 / 或第 47 位处的替代。在这些抗体的一些实施方案中，（人 κ I 轻链框架共有序列的）第 4 位是 L 和 / 或第 47 位是 F。

[0716] 在一个实施方案中，本发明的抗体包含变异 HVR-H1，其中 D3 是 P、D5 是 T、D6 是 R 且 D10 是 N。在一个实施方案中，本发明的抗体包含变异 HVR-H1，其中 D3 是 P、D5 是 N、D6 是 R 且 D10 是 N。在一些实施方案中，所述变异 HVR-H1 抗体进一步包含 HVR-L1、HVR-L2、HVR-L3、HVR-H2 和 HVR-H3，其中每个依次包含 SEQ ID NO:131、132、133、135 和 136 所示序列。在一些实施方案中，所述变异 HVR-H1 抗体进一步包含 HVR-L1 变体，其中 A9 是 E 或 S 和 / 或 A10 是 A 或 S。在一些实施方案中，所述变异 HVR-H1 抗体进一步包含 HVR-L3 变体，其中 C6 是 E 或 N 和 / 或 C7 是 A。在一些实施方案中，这些抗体进一步包含人亚组 III 重链框架共有序列。在这些抗体的一个实施方案中，所述框架共有序列包含第 71 位、第 73 位和 / 或第 78 位处的替代。在这些抗体的一些实施方案中，第 71 位是 A、第 73 位是 T 和 / 或第 78 位是 A。在这些抗体的一个实施方案中，这些抗体进一步包含人 κ I 轻链框架共有序列。在这些抗体的一些实施方案中，所述框架人 κ I 轻链框架共有序列包含第 4 位和 / 或第 47 位处的替代。在这些抗体的一些实施方案中，（人 κ I 轻链框架共有序列的）第 4 位是 L 和 / 或第 47 位是 F。在这些抗体的一个实施方案中，所述人亚组 III 重链框架共有序列包含第 48、67、69、71、73、75、78 和 / 或 80 位处的替代。在这些抗体的一些实施方案中，（所述人亚组 III 重链框架共有序列的）第 48 位是 I、第 67 位是 A、第 69 位是 F、第 71 位是 A、第 73 位是 T、第 75 位是 S、第 78 位是 A 和 / 或第 80 位是 M。在这些抗体的一些实施方案中，这些抗体进一步包含人 κ I 轻链框架共有序列。在这些抗体的一个实施方案中，所述框架人 κ I 轻链框架共有序列包含第 4 位和 / 或第 47 位处的替代。在这些抗体的一些实施方案中，（人 κ I 轻链框架共有序列的）第 4 位是 L 和 / 或第 47 位是 F。

[0717] 在一个实施方案中，本发明的抗体包含变异 HVR-H3，其中 F6 是 I 和 F8 是 L。在一个实施方案中，本发明的抗体包含变异 HVR-H3，其中 F6 是 I、F7 是 R 且 F8 是 L。在一些实施方案中，所述变异 HVR-H3 抗体进一步包含 HVR-L1、HVR-L2、HVR-L3、HVR-H1 和 HVR-H2，其中每个依次包含 SEQ ID NO:131、132、133、134 和 135 所示序列。在一些实施方案中，所述变异 HVR-H3 抗体进一步包含 HVR-L1 变体，其中 A9 是 E 或 S 和 / 或 A10 是 A 或 S。在一些实施方案中，所述变异 HVR-H3 抗体进一步包含 HVR-L3 变体，其中 C6 是 E 或 N 和 / 或 C7 是 A。在一些实施方案中，这些抗体进一步包含人亚组 III 重链框架共有序列。在这些抗体的一个实施方案中，所述人亚组 III 重链框架共有序列包含第 71 位、第 73 位和 / 或第 78 位处的替代。在这些抗体的一些实施方案中，（所述人亚组 III 重链框架共有序列的）第 71 位是 A、第 73 位是 T 和 / 或第 78 位是 A。在这些抗体的一个实施方案中，所述人亚组 III 重链框架共有序列包含第 48、67、69、71、73 和 / 或 78 位处的替代。在这些抗体的一些实施方案中，（所述人亚组 III 重链框架共有序列的）第 48 位是 I、第 67 位是 A、第 69 位是 F、第 71 位是 A、第 73 位是 T 和 / 或第 78 位是 A。在这些抗体的一个实施方案中，这些抗体进一步包含人 κ I 轻链框架共有序列。在这些抗体的一些实施方案中，所述框架人 κ I 轻链

框架共有序列包含第 4 位和 / 或第 47 位处的替代。在这些抗体的一些实施方案中，(所述人 κ I 轻链框架共有序列的) 第 4 位是 L 和 / 或第 47 位是 F。在这些抗体的一个实施方案中，所述人亚组 III 重链框架共有序列包含第 48、67、69、71、73、75、78 和 / 或 80 位处的替代。在这些抗体的一些实施方案中，(所述人亚组 III 重链框架共有序列的) 第 48 位是 I、第 67 位是 A、第 69 位是 F、第 71 位是 A、第 73 位是 T、第 75 位是 S、第 78 位是 A 和 / 或第 80 是 M。在这些抗体的一些实施方案中，这些抗体进一步包含人 κ I 轻链框架共有序列。在这些抗体的一个实施方案中，所述框架人 κ I 轻链框架共有序列包含第 4 位和 / 或第 47 位处的替代。在这些抗体的一些实施方案中，(所述人 κ I 轻链框架共有序列的) 第 4 位是 L 和 / 或第 47 位是 F。

[0718] 一方面，本发明提供了包含图 9(SEQ ID NO:17-21) 和 / 或图 10(SEQ ID NO:22-106) 所示一种、两种、三种、四种、五种或所有 HVR 序列的抗体。

[0719] 用于在宿主受试者中使用的治疗剂优选在所述受试者中针对所述药剂引发很小的免疫原性应答至没有引发免疫原应答。在一个实施方案中，本发明提供了这样的药剂。在一个实施方案中，本发明提供了一种人源化抗体，其在宿主受试者中引发和 / 或预期引发与包含序列 SEQ ID NO:10&14 的抗体相比实质性降低水平的人抗小鼠抗体应答 (HAMA)。在另一个例子中，本发明提供了一种人源化抗体，其引发和 / 或期望引发最低限度的人抗小鼠抗体应答 (HAMA)，或其不引发和 / 或期望不引发人抗小鼠抗体应答 (HAMA)。在一个例子中，本发明的抗体引发临床可接受水平的或临床可接受水平以下的抗小鼠抗体应答。

[0720] 本发明的人源化抗体可在其重链和 / 或轻链可变域中包含一种或多种人和 / 或人共有非高变区 (例如框架) 序列。在一些实施方案中，所述人和 / 或人共有非高变区序列内存在一处或多处别的修饰。在一个实施方案中，本发明抗体的重链可变域包含人共有框架序列，其在一个实施方案中是亚组 III 共有框架序列。在一个实施方案中，本发明的抗体包含修饰了至少一个氨基酸位置的变异亚组 III 共有框架序列。例如在一个实施方案中，变异亚组 III 共有框架序列可在第 71、73 和 / 或 78 位中一个或多个处包含替代。在一个实施方案中，所述替代是 R71A、N73T 和 / 或 L78A、其任意组合。例如，在一个实施方案中，变异亚组 III 重链框架共有序列包含第 48、67、69、71、73 和 / 或 78 位处的替代。在一个实施方案中，所述替代是 V48I、F67A、I69F、R71A、N73T 和 / 或 L78A。例如在一个实施方案中，变异亚组 III 重链框架共有序列包含第 48、67、69、71、73、75、78 和 / 或 80 位处的替代。在一个实施方案中，所述替代是 V48I、F67A、I69F、R71A、N73T、K75S、L78A 和 / 或 L80M。在一个实施方案中，本发明抗体的轻链可变域包含人共有框架序列，其在一个实施方案中是 κ I 共有框架序列。在一个实施方案中，本发明的抗体包含修饰了至少一个氨基酸位置的变异 κ I 共有框架序列。例如在一个实施方案中，变异 κ I 共有框架序列可包含第 4 位处的替代。在一个实施方案中，所述替代是 M4L。例如在一个实施方案中，变异 κ I 共有框架序列可包含第 4 位和 / 或第 47 位处的替代。在一个实施方案中，所述替代是 M4L 和 / 或 L47F。

[0721] 正如本领域已知的，和正如下文更为详细描述的，描述抗体高变区的氨基酸位置 / 边界可以有所变化，这取决于本领域中已知的背景和各种定义 (如下文所述的)。可变域 (区) 内的有些位置可以看作杂合高变位置，因为这些位置在一组标准下可认为在高变区内，而在不同的一组标准下被认为在高变区外。在延伸的高变区 (如下文进一步定义的) 中也能找到这些位置中的一处或多处。本发明提供了在这些杂合高变位置中包含修饰的抗

体。在一个实施方案中，这些高变位置包括重链可变域中位置 26-30、33-35B、47-49、57-65、93、94 和 101-102 中的一处或多处。在一个实施方案中，这些杂合高变位置包括轻链可变域中位置 24-29、35-36、46-49、56 和 97 中的一处或多处。在一个实施方案中，本发明的抗体包含修饰了一个或多个杂合高变位置的人变异人亚组共有框架序列。

[0722] 一方面，本发明的抗体包含重链可变域，该重链可变域包含在位置 26-30、33-35、48-49、58、60-63、93 和 101 中的一处或多处有修饰的变异人亚组 III 共有框架序列。在一个实施方案中，所述抗体包含 G26P 替代。在一个实施方案中，所述抗体包含 F27Y 替代。在一个实施方案中，所述抗体包含 T28P、S、Y、G 或 N 替代。在一个实施方案中，所述抗体包含 F29L 或 F29V 替代。在一个实施方案中，所述抗体包含 S30T、R、N、K、C、G 或 P 替代。在一个实施方案中，所述抗体包含 A33W 或 A33F 替代。在一个实施方案中，所述抗体包含 M34I、V 或 L 替代。在一个实施方案中，S35E、Q、N 或 D。在一个实施方案中，所述抗体包含 V48I 替代。在一个实施方案中，所述抗体包含 S49G 替代。在一个实施方案中，所述抗体包含 Y58N 替代。在一个实施方案中，所述抗体包含 A60N 替代。在一个实施方案中，所述抗体包含 D61E 替代。在一个实施方案中，所述抗体包含 S62I 替代。在一个实施方案中，所述抗体包含 V63F 替代。在一个实施方案中，所述抗体包含 A93T 替代。在一个实施方案中，所述抗体包含 D101S 替代。

[0723] 一方面，本发明的抗体包含轻链可变域，该轻链可变域包含在位置 24、27-29、56 和 97 中的一处或多处有修饰的变异人 κ 亚组 I 共有框架序列。在一个实施方案中，所述抗体包含 R24K 替代。在一个实施方案中，所述抗体包含 Q27K 替代。在一个实施方案中，所述抗体包含 S28D 或 E 替代。在一个实施方案中，所述抗体包含 I29G、A 或 S 替代。在一个实施方案中，所述抗体包含 S56R、N、T 或 G 替代。在一个实施方案中，所述抗体包含 T97N 替代。

[0724] 一方面，本发明的抗体包含重链可变域，该重链可变域包含在位置 26-30、33-35、48-49、58、60-63、93 和 101 中的 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16 处或所有处有修饰的变异人亚组 III 共有框架序列。在一个实施方案中，修饰选自下组 :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 和 D101S。在本发明的一些实施方案中，本发明的抗体包含在位置 48、67、69、71、73、75、78 和 / 或 80 处有修饰的变异亚组 III 共有框架序列。在一个实施方案中，所述替代是 V48I、F67A、I69F、R71A、N73T、K75S、L78A 和 / 或 L80M。

[0725] 一方面，本发明的抗体包含轻链可变域，该轻链可变域包含在位置 24、27-29、56 和 97 中的 1、2、3、4、5 处或所有处有修饰的变异人 κ 亚组 I 共有框架序列。在一个实施方案中，修饰选自下组 :R24K、Q27K、S28D(E)、I29G(A 或 S)、S56R(N、T 或 G) 和 T97N。在本发明的一些实施方案中，本发明的抗体包含在第 4 位和 / 或第 47 位处有修饰的变异 κ I 共有框架序列。在一个实施方案中，所述替代是 M4L 和 / 或 L47F。

[0726] 本发明的抗体可包含任何合适的人轻链框架序列或人共有轻链框架序列，前提是该抗体展现期望的生物学特征（例如期望的结合亲和力）。在一个实施方案中，本发明的抗体包含至少部分（或整个）人 κ 轻链框架序列。在一个实施方案中，本发明的抗体包含至少部分（或整个）人 κ 亚组 I 框架共有序列。

[0727] 一方面，本发明的抗体包含重链和/或轻链可变域，该重链和/或轻链可变域包含SEQ ID NO:9(图7A-7B)和/或13(图8A-8B)所示框架序列。

[0728] 一方面，本发明抗体是偶联至细胞毒剂的人源化抗CD79b抗体。一方面，所述偶联至细胞毒剂的人源化抗CD79b抗体在异种移植物中抑制肿瘤进展。

[0729] 一方面，所述人源化抗体和嵌合抗体都是单价的。在一个实施方案中，所述人源化和嵌合抗体都包含单个连接至Fc区的Fab区。在一个实施方案中，所述参比嵌合抗体包含连接至人Fc区的图7A-7B(SEQ ID NO:10)和图8A-8B(SEQ ID NO:14)所示可变域序列。在一个实施方案中，所述人Fc区是IgG(例如IgG1、2、3或4)的。

[0730] 一方面，本发明提供了一种抗体，其包含重链可变域，该重链可变域包含图15(SEQ ID NO:164-166)所示HVR1-HC、HVR2-HC和/或HVR3-HC序列。在一个实施方案中，所述可变域包含图15(SEQ ID NO:160-163)所示FR1-HC、FR2-HC、FR3-HC和/或FR4-HC序列。在一个实施方案中，所述抗体包含图15(SEQ ID NO:167和/或168)所示CH1和/或Fc序列。在一个实施方案中，本发明的抗体包含重链可变域，该重链可变域包含HVR1-HC、HVR2-HC和/或HVR3-HC序列(图15、SEQ ID NO:164-166)，及FR1-HC、FR2-HC、FR3-HC和/或FR4-HC序列(图15、SEQ ID NO:160-163)。在一个实施方案中，本发明的抗体包含重链可变域，该重链可变域包含HVR1-HC、HVR2-HC和/或HVR3-HC序列(图15、SEQ ID NO:164-166)，及图15(SEQ ID NO:167和/或168)所示CH1和/或Fc序列。在一个实施方案中，本发明的抗体包含重链可变域，该重链可变域包含HVR1-HC、HVR2-HC和/或HVR3-HC序列(图15、SEQ ID NO:164-166)，及FR1-HC、FR2-HC、FR3-HC和/或FR4-HC序列(图15、SEQ ID NO:160-163)，及CH1和/或Fc(图15、SEQ ID NO:167和/或168)。

[0731] 一方面，本发明提供了一种抗体，其包含轻链可变域，该轻链可变域包含图15(SEQ ID NO:156-158)所示HVR1-LC、HVR2-LC和/或HVR3-LC序列。在一个实施方案中，所述可变域包含图15(SEQ ID NO:152-155)所示FR1-LC、FR2-LC、FR3-LC和/或FR4-LC序列。在一个实施方案中，所述抗体包含图15(SEQ ID NO:159)所示CL1序列。在一个实施方案中，本发明的抗体包含轻链可变域，该轻链可变域包含HVR1-LC、HVR2-LC和/或HVR3-LC序列(SEQ ID NO:156-158)，及图15(SEQ ID NO:152-155)所示FR1-LC、FR2-LC、FR3-LC和/或FR4-LC序列。在一个实施方案中，本发明的抗体包含轻链可变域，该轻链可变域包含HVR1-LC、HVR2-LC和/或HVR3-LC序列(SEQ ID NO:156-158)，及图15(SEQ ID NO:159)所示CL1序列。在一个实施方案中，本发明的抗体包含轻链可变域，该轻链可变域包含HVR1-LC、HVR2-LC和/或HVR3-LC序列(SEQ ID NO:156-158)，及图15(SEQ ID NO:152-155)所示FR1-LC、FR2-LC、FR3-LC和/或FR4-LC序列，及图15(SEQ ID NO:159)所示CL1序列。

[0732] 一方面，本发明提供了一种抗体，其包含重链可变域，该重链可变域包含图16(SEQ ID NO:183-185)所示HVR1-HC、HVR2-HC和/或HVR3-HC序列。在一个实施方案中，所述可变域包含图16(SEQ ID NO:179-182)所示FR1-HC、FR2-HC、FR3-HC和/或FR4-HC序列。在一个实施方案中，所述抗体包含图16(SEQ ID NO:186和/或187)所示CH1和/或Fc序列。在一个实施方案中，本发明的抗体包含重链可变域，该重链可变域包含HVR1-HC、HVR2-HC和/或HVR3-HC序列(图16、SEQ ID NO:183-185)，及FR1-HC、FR2-HC、FR3-HC和/或FR4-HC序列(图16、SEQ ID NO:179-182)。在一个实施方案中，本发明的抗体包含重链可变域，该重链可变域包含HVR1-HC、HVR2-HC和/或HVR3-HC序列(图16、SEQ ID NO:183-185)，

及图 16(SEQ ID NO:186 和 / 或 187) 所示 CH1 和 / 或 Fc 序列。在一个实施方案中，本发明的抗体包含重链可变域，该重链可变域包含 HVR1-HC、HVR2-HC 和 / 或 HVR3-HC 序列 (图 16、SEQ ID NO:183-185)，及 FR1-HC、FR2-HC、FR3-HC 和 / 或 FR4-HC 序列 (图 16、SEQ ID NO:179-182)，及 CH1 和 / 或 Fc(图 16、SEQ ID NO:186 和 / 或 187)。

[0733] 一方面，本发明提供了一种抗体，其包含轻链可变域，该轻链可变域包含图 16(SEQ ID NO:175-177) 所示 HVR1-LC、HVR2-LC 和 / 或 HVR3-LC 序列。在一个实施方案中，所述可变域包含图 16(SEQ ID NO:171-174) 所示 FR1-LC、FR2-LC、FR3-LC 和 / 或 FR4-LC 序列。在一个实施方案中，所述抗体包含图 16(SEQ ID NO:178) 所示 CL1 序列。在一个实施方案中，本发明的抗体包含轻链可变域，该轻链可变域包含 HVR1-LC、HVR2-LC 和 / 或 HVR3-LC 序列 (SEQ ID NO:175-177)，及图 16(SEQ ID NO:171-174) 所示 FR1-LC、FR2-LC、FR3-LC 和 / 或 FR4-LC 序列。在一个实施方案中，本发明的抗体包含轻链可变域，该轻链可变域包含 HVR1-LC、HVR2-LC 和 / 或 HVR3-LC 序列 (SEQ ID NO:175-177)，及图 16(SEQ ID NO:178) 所示 CL1 序列。在一个实施方案中，本发明的抗体包含轻链可变域，该轻链可变域包含 HVR1-LC、HVR2-LC 和 / 或 HVR3-LC 序列 (SEQ ID NO:175-177)，及图 16(SEQ ID NO:171-174) 所示 FR1-LC、FR2-LC、FR3-LC 和 / 或 FR4-LC 序列，及图 16(SEQ ID NO:178) 所示 CL1 序列。

[0734] 一方面，本发明提供了一种抗体，其包含重链可变域，该重链可变域包含图 17(SEQ ID NO:202-204) 所示 HVR1-HC、HVR2-HC 和 / 或 HVR3-HC 序列。在一个实施方案中，所述可变域包含图 17(SEQ ID NO:198-201) 所示 FR1-HC、FR2-HC、FR3-HC 和 / 或 FR4-HC 序列。在一个实施方案中，所述抗体包含图 17(SEQ ID NO:205 和 / 或 206) 所示 CH1 和 / 或 Fc 序列。在一个实施方案中，本发明的抗体包含重链可变域，该重链可变域包含 HVR1-HC、HVR2-HC 和 / 或 HVR3-HC 序列 (图 17、SEQ ID NO:202-204)，及 FR1-HC、FR2-HC、FR3-HC 和 / 或 FR4-HC 序列 (图 17、SEQ ID NO:198-201)。在一个实施方案中，本发明的抗体包含重链可变域，该重链可变域包含 HVR1-HC、HVR2-HC 和 / 或 HVR3-HC 序列 (图 17、SEQ ID NO:202-204)，及图 17(SEQ ID NO:205 和 / 或 206) 所示 CH1 和 / 或 Fc 序列。在一个实施方案中，本发明的抗体包含重链可变域，该重链可变域包含 HVR1-HC、HVR2-HC 和 / 或 HVR3-HC 序列 (图 17、SEQ ID NO:202-204)，及 FR1-HC、FR2-HC、FR3-HC 和 / 或 FR4-HC 序列 (图 17、SEQ ID NO:198-201)，及 CH1 和 / 或 Fc(图 17、SEQ ID NO:205 和 / 或 206)。

[0735] 一方面，本发明提供了一种抗体，其包含轻链可变域，该轻链可变域包含图 17(SEQ ID NO:194-196) 所示 HVR1-LC、HVR2-LC 和 / 或 HVR3-LC 序列。在一个实施方案中，所述可变域包含图 17(SEQ ID NO:190-193) 所示 FR1-LC、FR2-LC、FR3-LC 和 / 或 FR4-LC 序列。在一个实施方案中，所述抗体包含图 17(SEQ ID NO:197) 所示 CL1 序列。在一个实施方案中，本发明的抗体包含轻链可变域，该轻链可变域包含 HVR1-LC、HVR2-LC 和 / 或 HVR3-LC 序列 (SEQ ID NO:194-196)，及图 17(SEQ ID NO:190-193) 所示 FR1-LC、FR2-LC、FR3-LC 和 / 或 FR4-LC 序列。在一个实施方案中，本发明的抗体包含轻链可变域，该轻链可变域包含 HVR1-LC、HVR2-LC 和 / 或 HVR3-LC 序列 (SEQ ID NO:194-196)，及图 17(SEQ ID NO:197) 所示 CL1 序列。在一个实施方案中，本发明的抗体包含轻链可变域，该轻链可变域包含 HVR1-LC、HVR2-LC 和 / 或 HVR3-LC 序列 (SEQ ID NO:194-196)，及图 17(SEQ ID NO:190-193) 所示 FR1-LC、FR2-LC、FR3-LC 和 / 或 FR4-LC 序列，及图 17(SEQ ID NO:197) 所示 CL1 序列。

[0736] 一方面，本发明提供了一种抗体，其包含重链可变域，该重链可变域包含图 18(SEQ

ID NO:221-223) 所示 HVR1-HC、HVR2-HC 和 / 或 HVR3-HC 序列。在一个实施方案中，所述可变域包含图 18(SEQ ID NO:217-220) 所示 FR1-HC、FR2-HC、FR3-HC 和 / 或 FR4-HC 序列。在一个实施方案中，所述抗体包含图 18(SEQ ID NO:224 和 / 或 225) 所示 CH1 和 / 或 Fc 序列。在一个实施方案中，本发明的抗体包含重链可变域，该重链可变域包含 HVR1-HC、HVR2-HC 和 / 或 HVR3-HC 序列 (图 18、SEQ ID NO:221-223)，及 FR1-HC、FR2-HC、FR3-HC 和 / 或 FR4-HC 序列 (图 18、SEQ ID NO:217-220)。在一个实施方案中，本发明的抗体包含重链可变域，该重链可变域包含 HVR1-HC、HVR2-HC 和 / 或 HVR3-HC 序列 (图 18、SEQ ID NO:221-223)，及 CH1 和 / 或 Fc 图 18(SEQ ID NO:224 和 / 或 225) 所示序列。在一个实施方案中，本发明的抗体包含重链可变域，该重链可变域包含 HVR1-HC、HVR2-HC 和 / 或 HVR3-HC 序列 (图 18、SEQ ID NO:221-223)，及 FR1-HC、FR2-HC、FR3-HC 和 / 或 FR4-HC 序列 (图 18、SEQ ID NO:217-220)，及 CH1 和 / 或 Fc(图 18、SEQ ID NO:224 和 / 或 225)。

[0737] 一方面，本发明提供了一种抗体，其包含轻链可变域，该轻链可变域包含图 18(SEQ ID NO:213-215) 所示 HVR1-LC、HVR2-LC 和 / 或 HVR3-LC 序列。在一个实施方案中，所述可变域包含图 18(SEQ ID NO:209-212) 所示 FR1-LC、FR2-LC、FR3-LC 和 / 或 FR4-LC 序列。在一个实施方案中，所述抗体包含图 18(SEQ ID NO:216) 所示 CL1 序列。在一个实施方案中，本发明的抗体包含轻链可变域，该轻链可变域包含 HVR1-LC、HVR2-LC 和 / 或 HVR3-LC 序列 (SEQ ID NO:213-215)，及图 18(SEQ ID NO:209-212) 所示 FR1-LC、FR2-LC、FR3-LC 和 / 或 FR4-LC 序列。在一个实施方案中，本发明的抗体包含轻链可变域，该轻链可变域包含 HVR1-LC、HVR2-LC 和 / 或 HVR3-LC 序列 (SEQ ID NO:213-215)，及图 18(SEQ ID NO:216) 所示 CL1 序列。在一个实施方案中，本发明的抗体包含轻链可变域，该轻链可变域包含 HVR1-LC、HVR2-LC 和 / 或 HVR3-LC 序列 (SEQ ID NO:213-215)，及图 18(SEQ ID NO:209-212) 所示 FR1-LC、FR2-LC、FR3-LC 和 / 或 FR4-LC 序列，及图 18(SEQ ID NO:216) 所示 CL1 序列。

[0738] 在一个方面，本发明的抗体包括半胱氨酸改造抗体，其中用游离半胱氨酸氨基酸替代亲本抗体的一个或多个氨基酸，正如 WO2006/034488 ;US 2007/0092940 中所披露的 (完整收入本文作为参考)。可以对任何形式的抗 CD79b 抗体进行如此改造，即突变。例如，可以改造亲本 Fab 抗体片段以形成半胱氨酸改造的 Fab，在本文中称为“ThioFab”。类似地，可以改造亲本单克隆抗体以形成“ThioMab”。应当注意，单位点突变在 ThioFab 中产生单个改造的半胱氨酸残基，而单位点突变在 ThioMab 中产生两个改造的半胱氨酸残基，由于 IgG 抗体的二聚体特性。本发明的半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体包括单克隆抗体，人源化的或嵌合的单克隆抗体，及抗体的抗原结合片段、融合多肽和类似物，其优先结合细胞相关 CD79b 多肽 (cell-associated CD79b polypeptide)。或者，半胱氨酸改造抗体可以包括下述抗体，其在抗体或 Fab 中在本文中所公开的位置包含半胱氨酸，该抗体由抗体的序列设计和 / 或选择产生，而不必改变亲本抗体，诸如通过噬菌体展示抗体设计和选择或经由轻链和 / 或重链框架序列和恒定区的重新设计。半胱氨酸改造抗体包含一个或多个游离半胱氨酸氨基酸，其具有范围为 0.6 至 1.0 ;0.7 至 1.0 ;或 0.8 至 1.0 的硫醇反应性值。游离的半胱氨酸氨基酸指已经被改造入亲本抗体且不是二硫桥的一部分的半胱氨酸残基。半胱氨酸改造抗体可用于在改造的半胱氨酸位点附着细胞毒性化合物和 / 或成像化合物，例如经由马来酰亚胺或卤代乙酰基。Cys 残基的硫醇官能度对马来酰亚胺基团的亲核反应性比蛋白质中任何其它氨基酸官能度 (诸如赖氨酸残基的氨基或 N 末端氨基) 高大约 1000 倍。

碘代乙酰基和马来酰亚胺试剂中的硫醇特异性官能度可以与胺基团起反应，但需要较高的 pH(>9.0) 和较长的反应时间 (Garman, 1997, Non-Radioactive Labelling:A Practical Approach, Academic Press, London)。

[0739] 在一个方面，本发明的半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体包含任何一个如下位置的改造的半胱氨酸，其中该位置是轻链中依照 Kabat 等的编号（参见 Kabat 等 (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第 5 版，Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD) 和重链（包括 Fc 区）中依照 EU 编号方式（参见 Kabat 等 (1991), 见上文）的编号，其中通过在图 24 的 A 部分、25 的 A 部分、26 的 A 部分、27 的 A 部分、28、48 的 A 部分和 49 的 A 部分中划下划线来描述的轻链恒定区开始于第 109 位 (Kabat 编号方式)，且通过在图 24 的 B 部分、25 的 B 部分、26 的 B 部分、27 的 B 部分、28 的 B 部分、48 的 B 部分和 49 的 B 部分中划下划线来描述的重链恒定区开始于第 118 位 (EU 编号方式)。该位置还可以通过其在图 24-28、48 和 49 中所示全长轻链或重链的氨基酸顺序编号方式中的位置来提到。依照本发明的一个实施方案，抗 CD79b 抗体包含 LC-V205C 处的改造的半胱氨酸 (Kabat 编号 :Val 205 ;图 27 的 A 部分和 49 的 A 部分中顺序编号 209，在那个位置改造成 Cys)。在图 27 的 A 部分和 49 的 A 部分中以粗体、双下划线文本显示了轻链中改造的半胱氨酸。依照一个实施方案，抗 CD79b 抗体包含 HC-A118C 处的改造的半胱氨酸 (EU 编号 :Ala 118 ;Kabat 编号 114 ;图 24 的 B 部分、25 的 B 部分、26 的 B 部分、28 的 B 部分或 48 的 B 部分中顺序编号 118，在那个位置改造成 Cys)。在图 24 的 B 部分、25 的 B 部分、26 的 B 部分、28 的 B 部分或 48 的 B 部分中以粗体、双下划线文本显示了重链中改造的半胱氨酸。依照一个实施方案，抗 CD79b 抗体包含 Fc-S400C 处的改造的半胱氨酸 (EU 编号 :Ser 400 ;Kabat 编号 396 ;图 24 的 B 部分、25 的 B 部分、26 的 B 部分、28 的 B 部分或 48 的 B 部分中顺序编号 400，在那个位置改造成 Cys)。在其它实施方案中，重链（包括 Fc 区）的改造的半胱氨酸位于任何一个下列位置（依照 Kabat 编号方式及括号中的 EU 编号方式）：5、23、84、112、114(118，EU 编号方式)、116(120，EU 编号方式)、278(282，EU 编号方式)、371(375，EU 编号方式）或 396(400，EU 编号方式)。如此，本发明的亲本人源化抗 CD79b 抗体在这些位置上的氨基酸改变是 :V5C、A23C、A84C、S112C、A114C(A118C，EU 编号方式)、T116C(T120C，EU 编号方式)、V278C(V282C，EU 编号方式)、S371C(S375C，EU 编号方式）或 S396C(S400C，EU 编号方式)。如此，本发明的亲本嵌和抗 CD79b 抗体在这些位置上的氨基酸改变是 :Q5C、K23C、S84C、S112C、A114C(A118C，EU 编号方式)、T116C(T120C，EU 编号方式)、V278C(V282C，EU 编号方式)、S371C(S375C，EU 编号方式）或 S396C(S400C，EU 编号方式)。如此，本发明的亲本人源化抗 cynoCD79b 抗体在这些位置上的氨基酸改变是 :Q5C、T23C、S84C、S112C、A114C(A118C，EU 编号方式)、T116C(T120C，EU 编号方式)、V278C(V282C，EU 编号方式)、S371C(S375C，EU 编号方式）或 S396C(S400C，EU 编号方式)。在其它实施方案中，轻链的改造的半胱氨酸位于任何一个下列位置（依照 Kabat 编号方式）：15、110、114、121、127、168、205。如此，本发明的亲本人源化抗 CD79b 抗体在这些位置上的氨基酸改变是 :V15C、V110C、S114C、S121C、S127C、S168C 或 V205C。如此，本发明的亲本嵌合抗 CD79b 抗体在这些位置上的氨基酸改变是 :L15C、V110C、S114C、S121C、S127C、S168C 或 V205C。如此，本发明的亲本抗 cynoCD79b 抗体在这些位置上的氨基酸改变是 :L15C、V110C、S114C、S121C、S127C、S168C 或 V205C。

[0740] 在一个方面，本发明包括包含一个或多个游离的半胱氨酸氨基酸的半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体，其中该半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体结合 CD79b 多肽，且是通过包括用半胱氨酸替代亲本抗 CD79b 抗体的一个或多个氨基酸残基的方法来制备的，其中该亲本抗体包含至少一种 HVR 序列，其选自：

[0741] (a)HVR-L1，其包含序列 A1-A15，其中 A1-A15 是 KASQSVDYDGDSFLN(SEQ ID NO:131) 或 KASQSVDYEGDSFLN(SEQ ID NO:137)；

[0742] (b)HVR-L2，其包含序列 B1-B7，其中 B1-B7 是 AASNLES(SEQ ID NO:132)；

[0743] (c)HVR-L3，其包含序列 C1-C9，其中 C1-C9 是 QQSNEDPLT(SEQ ID NO:133)；

[0744] (d)HVR-H1，其包含序列 D1-D10，其中 D1-D10 是 GYTFSSYWIE(SEQ ID NO:134)；

[0745] (e)HVR-H2，其包含序列 E1-E18，其中 E1-E18 是 GEILPGGGDTNYNEIFKG(SEQ ID NO:135)；和

[0746] (f)HVR-H3，其包含序列 F1-F10，其中 F1-F10 是 TRRVPVYFDY(SEQ ID NO:136) 或 TRRVPIRLDY(SEQ ID NO:138)。

[0747] 在某个方面中，本发明涉及一种半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体，其包含与具有如本文中所公开的全长氨基酸序列的半胱氨酸改造抗体具有至少约 80％氨基酸序列同一性，或者至少约 81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或 100％氨基酸序列同一性的氨基酸序列；或缺乏如本文中所公开的信号肽的半胱氨酸改造抗体。

[0748] 在又一个方面中，本发明涉及一种分离的半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体，其包含由如下核苷酸序列所编码的氨基酸序列，该核苷酸序列能与编码下列各项的 DNA 分子的互补链发生杂交：(a) 半胱氨酸改造抗体，其具有如本文中所公开的全长氨基酸序列，(b) 半胱氨酸改造抗体氨基酸序列，其缺乏如本文中所公开的信号肽，(c) 跨膜的半胱氨酸改造抗体蛋白的胞外结构域，其带有或不带有如本文中所公开的信号肽，(d) 由任何在本文中所公开的核酸序列所编码的氨基酸序列，或 (e) 如本文中所公开的全长的半胱氨酸改造抗体氨基酸序列的任何其它明确限定的片段。

[0749] 在一个具体的方面中，本发明提供了一种分离的半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体，其不带有 N 末端信号序列和 / 或不带有起始甲硫氨酸，并且是由编码如本文中所描述的氨基酸序列的核苷酸序列所编码的。其产生方法在本文中也有描述，其中那些方法包括在适于表达半胱氨酸改造抗体的条件下培养包含含有合适的编码核酸分子的载体的宿主细胞和从该细胞培养物中回收半胱氨酸改造抗体。

[0750] 本发明的另一个方面提供了一种分离的半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体，其或是跨膜结构域删除的或是跨膜结构域失活的。其产生方法在本文中也有描述，其中那些方法包括在适于表达半胱氨酸改造抗体的条件下培养包含含有合适的编码核酸分子的载体的宿主细胞和从该细胞培养物中回收半胱氨酸改造抗体。

[0751] 在其它方面，本发明提供了分离的抗 CD79b 嵌合半胱氨酸改造抗体，其包含与异源 (非 CD79b) 多肽融合的任何本文所述半胱氨酸改造抗体。此类嵌合分子的例子包括与异源多肽 (诸如例如表位标签序列或免疫球蛋白 Fc 区) 融合的任何本文所述半胱氨酸改造抗体。

[0752] 半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体可以是单克隆抗体、抗体片段、嵌合抗体、人源化抗

体、单链抗体或竞争性抑制抗 CD79b 多肽抗体与其相应抗原表位结合的抗体。本发明的抗体可以任选地偶联至生长抑制剂或细胞毒剂，诸如毒素，包括例如 auristatin、美登木素生物碱、多拉司他汀衍生物或加利车霉素、抗生素、放射性同位素、溶核酶等。本发明的抗体可以任选地在 CHO 细胞或细菌细胞中产生，且优选地抑制它们所结合的细胞的生长或增殖或诱导与它们所结合的细胞的死亡。为了诊断目的，本发明的抗体可以带上可检测标记物、附着至固体支持物、等等。

[0753] 在本发明的其它方面，本发明提供了包含编码任何本文所述抗 CD79b 抗体和抗 CD79b 半胱氨酸改造抗体的 DNA 的载体。还提供了包含任何此类载体的宿主细胞。举例而言，宿主细胞可以是 CHO 细胞、大肠杆菌细胞或酵母细胞。用于产生任何本文所述多肽的方法有进一步的提供，且包括在适于表达期望多肽的条件下培养宿主细胞和从该细胞培养物中回收期望多肽。

[0754] 半胱氨酸改造抗体可用于治疗癌症，并包括对细胞表面和跨膜受体及肿瘤相关抗原 (TAA) 特异性的抗体。此类抗体可以以裸抗体（未偶联至药物或标记物模块）或抗体 - 药物偶联物 (ADC) 的形式使用。本发明的半胱氨酸改造抗体可以位点特异性地且高效地偶联硫醇反应性试剂。该硫醇反应性试剂可以是多功能接头试剂、捕获标记物试剂、荧光团试剂或药物 - 接头中间体。半胱氨酸改造抗体可以用可检测标记物标记，在固相支持物上固定化和 / 或与药物模块偶联。可以将硫醇反应性普及至任何抗体，其中可以用反应性半胱氨酸氨基酸进行氨基酸替代，这发生在轻链中选自下列氨基酸范围的范围内 :L10-L20，L105-L115，L109-L119，L116-L126，L122-L132，L163-L173，L200-L210，及重链中选自下列氨基酸范围的范围内 :H1-H10，H18-H28，H79-H89，H107-H117，H109-H119，H111-H121，及 Fc 区中选自下组的范围内 :H270-H280，H366-H376，H391-401，其中氨基酸位置的编号方式开始于 Kabat 编号系统 (Kabat 等 (1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第 5 版 ,Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD) 的第 1 位并在其后顺序延续，正如 WO2006034488 ;US 2007/0092940 中所披露的。还可以将硫醇反应性普及至抗体的某些结构域，诸如轻链恒定域 (CL) 和重链恒定域 (CH1、CH2 和 CH3)。可以进行导致 0.6 和更高的硫醇反应性值的半胱氨酸替换，这分别发生在完整抗体 :IgA、IgD、IgE、IgG 和 IgM(包括 IgG 亚类 :IgG1、IgG2、IgG3、IgG4，IgA1 和 IgA2) 的重链恒定域 α、δ、ε、γ 和 μ 中。此类抗体及其用途在 WO 2006/034488 ;US 2007/0092940 中有披露。

[0755] 本发明的半胱氨酸改造抗体优选地保留它们野生型、亲本抗体对应物的抗原结合能力。如此，半胱氨酸改造抗体能够结合（优选特异性地）抗原。此类抗原包括例如肿瘤相关抗原 (TAA)、细胞表面受体蛋白和其它细胞表面分子、跨膜蛋白、信号传导蛋白、细胞存活调节因子、细胞增殖调节因子、与组织发育或分化有关的（例如已知或怀疑在功能上促进的）分子、淋巴因子、细胞因子、牵涉细胞周期调控的分子、涉及脉管发生 (vasculogenesis) 的分子和与血管发生 (angiogenesis) 有关的（例如已知或怀疑在功能上促进的）分子。肿瘤相关抗原可以是簇分化因子 (cluster differentiation factor)（即 CD 蛋白，包括但不限于 CD79b)。本发明的半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体保留它们亲本抗 CD79b 抗体对应物的抗原结合能力。如此，本发明的半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体能够结合（优选特异性地）CD79b 抗原，包括人抗 CD79b 同种型 β 和 / 或 α，包括此类抗原在细胞

（包括但不限于B细胞）表面上表达时。

[0756] 在一个方面，本发明的抗体可以与任何标记物模块偶联，所述标记物模块可以通过反应性模块、活化的模块或反应性半胱氨酸硫醇基团共价附着至抗体 (Singh 等 (2002) Anal.Biochem.304:147-15 ;Harlow E. 和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)。所附着的标记物可以发挥下列功能 :(i) 提供可检测信号 ;(ii) 与第二标记物相互作用以修饰由第一或第二标记物所提供的可检测信号，例如以给出 FRET（荧光共振能量转移）;(iii) 稳定与抗原或配体的相互作用或提高与抗原或配体结合的亲和力 ;(iv) 通过电荷、疏水性、形状或其它物理参数来影响迁移率，例如电泳迁移率或细胞通透性 ;或 (v) 提供捕获模块以调控配体亲和力、抗体 / 抗原结合或离子络合。

[0757] 经过标记的半胱氨酸改造抗体可以用于诊断测定法，例如用于在特定细胞、组织或血清中检测感兴趣抗原的表达。为了诊断应用，典型地用可检测模块标记抗体。许多标记物是可获得的，一般可将它们分组成下列种类 :

[0758] 放射性同位素（放射性核素），诸如 ^{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。放射性同位素标记的抗体可用于受体靶向成像实验。使用 Current Protocols in Immunology, 卷 1 和 2,Coligen 等编 ,Wiley-Interscience,New York,NY,Pubs.(1991) 中记载的技术，可以用结合、螯合或以其它方式络合放射性同位素金属的配体试剂来标记抗体，其中该试剂与该抗体的改造的半胱氨酸硫醇具有反应性。可以络合金属离子的螯合配体包括 DOTA、DOTP、DOTMA、DTPA 和 TETA(Macrocyclics,Dallas,TX)。放射性核素可以通过与本发明的抗体 - 药物偶联物络合来靶向 (Wu 等 (2005)Nature Biotechnology 23(9):1137-1146)。

[0759] 接头试剂，诸如 DOTA- 马来酰亚胺 (4- 马来酰亚氨基丁酰氨基苄基 -DOTA) (4-maleimidobutyramidobenzyl-DOTA) 可以通过氨基苄基 -DOTA 与用氯甲酸异丙酯 (isopropylchloroformate)(Aldrich) 活化的 4- 马来酰亚氨基丁酸 (Fluka) 反应来制备，其遵循 Axworthy 等 (2000)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 97(4):1802-1807 的规程。DOTA- 马来酰亚胺试剂与半胱氨酸改造抗体的游离半胱氨酸氨基酸起反应，并在该抗体上提供金属络合配体 (Lewis 等 (1998)Bioconj.Chem.9:72-86)。螯合接头标记试剂，诸如 DOTA-NHS(1,4,7,10- 四氮杂环十二烷 -1,4,7,10- 四乙酸单 (N- 羟基琥珀酰亚胺酯))(1,4,7,10-tetra azacyclododecane-1,4,7,10-tetraacetic acid mono(N-hydroxysuccinimideester)) 是商品化的 (Macrocyclics,Dallas,TX)。用放射性核素标记的抗体进行的受体靶物成像可以通过检测和定量抗体在肿瘤组织中的逐渐积累来提供途径活化的标志 (Albert 等 (1998)Bioorg.Med.Chem.Lett.8:1207-1210)。在溶酶体降解后，所偶联的放射性金属可以保留在细胞内。

[0760] 适合作为用于成像实验的抗体标记物的金属 - 螯合剂复合体披露于 :US 5,342,606 ;US 5,428,155 ;US 5,316,757 ;US 5,480,990 ;US 5,462,725 ;US 5,428,139 ; US 5,385,893 ;US 5,739,294 ;US 5,750,660 ;US 5,834,456 ;Hnatowich 等 (1983) J.Immunol.Methods 65:147-157 ;Meares 等 (1984)Anal.Biochem.142:68-78 ;Mirzadeh 等 (1990)Bioconjugate Chem.1:59-65 ;Meares 等 (1990)J.Cancer 1990,Suppl.10:21-26 ;

Izard 等 (1992)Bioconjugate Chem.3:346-350 ;Nikula 等 (1995)Nucl.Med. Biol.22:387-90 ;Camera 等 (1993)Nucl.Med.Biol.20:955-62 ;Kukis 等 (1998)J.Nucl. Med.39:2105-2110 ;Verel 等 (2003)J.Nucl.Med.44:1663-1670 ;Camera 等 (1994)J.Nucl. Med.21:640-646 ;Ruegg 等 (1990)Cancer Res.50:4221-4226 ;Verel 等 (2003)J.Nucl. Med.44:1663-1670 ;Lee 等 (2001)Cancer Res.61:4474-4482 ;Mitchell 等 (2003)J.Nucl. Med.44:1105-1112 ;Kobayashi 等 (1999)Bioconjugate Chem.10:103-111 ;Miederer 等 (2004)J.Nucl.Med.45:129-137 ;DeNardo 等 (1998)Clinical Cancer Research 4:2483-90 ;Blend 等 (2003)Cancer Biotherapy&Radiopharmaceuticals 18:355-363 ; Nikula 等 (1999)J.Nucl.Med.40:166-76 ;Kobayashi 等 (1998)J.Nucl.Med.39:829-36 ; Mardirossian 等 (1993)Nucl.Med.Biol.20:65-74 ;Roselli 等 (1999)Cancer Biotherapy &Radiopharmaceuticals,14:209-20。

[0761] 荧光标记物,诸如稀土螯合物(铕螯合物);荧光素类,包括FITC、5-羧基荧光素、6-羧基荧光素;罗丹明类,包括TAMRA;丹酰(dansyl);丽丝胺(Lissamine);花青(cyanines);藻红蛋白;德克萨斯红(Texas Red);和它们的类似物。使用例如Current Protocols in Immunology(见上文)中披露的技术,可以将荧光标记物偶联至抗体。荧光染料和荧光标记物试剂包括那些可购自Invitrogen/Molecular Probes(Eugene,OR)和Pierce Biotechnology,Inc.(Rockford,IL)的。

[0762] 各种酶-底物标记物是可获得的或有披露的(US 4275149)。该酶一般催化显色底物的化学改变,其可以使用各种技术来测量。例如,该酶可以催化底物的颜色变化,其可以用分光光度法来测量。或者,该酶可以改变底物的荧光或化学发光。用于定量荧光变化的技术在上文有描述。化学发光底物通过化学反应而成为电子激发的,然后可以发射可测量的光(例如使用化学发光计)或给荧光受体贡献能量。酶标记物的例子包括萤光素酶(例如萤火虫萤光素酶和细菌萤光素酶;US 4,737,456)、萤光素、2,3-二氢酞嗪二酮、苹果酸脱氢酶、脲酶、过氧化物酶诸如辣根过氧化物酶(HRP)、碱性磷酸酶(AP)、β-半乳糖苷酶、葡糖淀粉酶、溶菌酶、糖氧化酶(例如葡萄糖氧化酶、半乳糖氧化酶和葡萄糖-6-磷酸脱氢酶)、杂环氧化酶(诸如尿酸酶和黄嘌呤氧化酶)、乳过氧化物酶、微过氧化物酶等。用于将酶偶联至抗体的技术披露于:O'Sullivan 等(1981)"Methods for the Preparation of Enzyme-Antibody Conjugates for use in Enzyme Immunoassay",于Methods in Enzym.(J.Langone 和H.Van Vunakis 编),Academic Press,New York,73:147-166。

[0763] 酶-底物组合的例子包括例如:

[0764] (i)辣根过氧化物酶(HRP)与作为底物的过氧化氢,其中该过氧化氢氧化染料前体(例如邻苯二胺(OPD)或3,3',5,5'-四甲基联苯胺盐酸盐(TMB));

[0765] (ii)碱性磷酸酶(AP)与作为显色底物的对硝基苯基磷酸酯;和

[0766] (iii)β-D-半乳糖苷酶(β-D-Gal)与显色底物(例如对硝基苯基-β-D-半乳糖苷)或荧光底物4-甲基伞形基-β-D-半乳糖苷)。

[0767] 许多其它的酶-底物组合对本领域技术人员而言是可获得的。一般综述参见US 4275149和US 4318980。

[0768] 标记物可以间接地与氨基酸侧链、活化的氨基酸侧链、半胱氨酸改造抗体等偶联。例如,抗体可以与生物素偶联,并且任何上述三大类标记物可以与亲合素或链霉亲合

素偶联，反之亦然。生物素选择性结合链霉亲合素，如此，标记物可以以该间接方式与抗体偶联。或者，为了实现标记物与多肽变体的间接偶联，多肽变体与小的半抗原（例如地高辛）偶联，并且上述不同类型的标记物之一与抗半抗原多肽变体（例如抗地高辛抗体）偶联。如此，可以实现标记物与多肽变体的间接偶联 (Hermanson, G. (1996) 于 Bioconjugate Techniques Academic Press, San Diego)。

[0769] 可以在任何已知的测定方法中使用本发明的抗体，诸如 ELISA、竞争性结合测定法、直接和间接三明治式（或夹心式）测定法和免疫沉淀测定法 (Zola, (1987) Monoclonal Antibodies:A Manual of Techniques, pp. 147-158, CRC Press, Inc.)。

[0770] 检测标记物可用于对结合或识别事件进行定位、显现和定量。经过标记的本发明抗体可检测细胞表面受体。经过可检测标记的抗体的另一种用途是基于珠子的免疫捕获方法，其包括使珠子与荧光标记的抗体偶联，和在配体结合后检测荧光信号。类似的结合检测方法学利用表面等离振子共振 (SPR) 效应来测量和检测抗体 - 抗原相互作用。

[0771] 检测标记物（诸如荧光染料和化学发光染料）(Briggs 等 (1997) "Synthesis of Functionalised Fluorescent Dyes and Their Coupling to Amines and Amino Acids", J. Chem. Soc., Perkin-Trans. 1:1051-1058) 提供可检测的信号，并且一般可用于标记抗体，优选具有下列性质：(i) 经过标记的抗体应产生很高的信号但低的背景，使得在无细胞测定法和基于细胞的测定法中都能灵敏地检测出少量的抗体；和 (ii) 经过标记的抗体应是光稳定的，使得可以观察、监测和记录到荧光信号，但没有显著的光漂白。对于涉及经标记抗体对膜或细胞表面（尤其是活细胞）的细胞表面结合的应用，标记物优选地 (iii) 具有优秀的水溶性以实现有效的偶联物浓度和检测灵敏度，和 (iv) 对活细胞是无毒性的，免得破坏细胞的正常代谢过程或引起过早的细胞死亡。

[0772] 可以在用活细胞或珠子自动实施混合和读取 (mix-and-read)、非放射性测定法的系统（FMAT® 8100HTS System, Applied Biosystems, Foster City, Calif.）上进行细胞荧光强度的直接定量和荧光标记事件（例如肽 - 染料偶联物的细胞表面结合）的点查 (Miraglia, "Homogeneous cell-and bead-based assays for high throughput screening using fluorometric microvolume assay technology", (1999) J. of Biomolecular Screening 4:193-204)。经过标记的抗体的用途还包括细胞表面受体结合测定法、免疫捕获测定法、荧光连接的免疫吸附测定法 (FLISA)、胱天蛋白酶切割 (Zheng, "Caspase-3controls both cytoplasmic and nuclear events associated with Fas-mediated apoptosis in vivo", (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:618-23; US 6,372,907)、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) 和细胞毒性测定法。可以使用荧光计量微体积测定法 (fluorometric microvolume assay) 技术鉴定由靶向细胞表面的分子所引起的上调或下调 (Swartzman, "A homogeneous and multiplexed immunoassay for high-throughput screening using fluorometric microvolume assay technology", (1999) Anal. Biochem. 271:143-51)。

[0773] 经过标记的本发明抗体可通过生物医学和分子成像的各种方法和技术用作成像生物标志物和探针，诸如：(i) MRI（磁共振成像）；(ii) microCT（计算机化断层成像）；

(iii)SPECT(单光子发射计算机化断层成像);(iv)PET(正电子发射断层成像)Chen 等(2004)Bioconjugate Chem.15:41-49;(v) 生物发光;(vi) 荧光;和 (vii) 超声。免疫闪烁成像是一种成像规程,其中给动物或人患者施用用放射性物质标记的抗体,并拍摄身体中该抗体定位的部位的照片 (US 6528624)。可以将成像生物标志物作为正常生物学过程、致病过程或对治疗性干涉的药理学应答的指示客观地测量并评估。生物标志物可以是数种类型:类型 0 是疾病的天然历史标志物,并与已知临床指标纵向相关,例如类风湿性关节炎中滑膜炎症的MRI 评估;类型 I 标志物捕获干预的依照作用机制的效应,即使该机制可能与临床结果无关;类型 II 标志物发挥代用终点 (surrogate endpoint) 的功能,其中该生物标志物的改变或来自该生物标志物的信号预示临床益处以"证实"靶向应答,诸如通过 CT 在类风湿性关节炎中测量到的骨侵蚀。如此,成像生物标志物可以提供关于下列各项的药效学 (PD) 治疗信息:(i) 靶蛋白的表达,(ii) 治疗剂对靶蛋白的结合,即选择性,和 (iii) 清除和半衰期药动学数据。体内成像生物标志物相对于基于实验室的生物标志物的优点包括:非侵入性处理,可定量,全身评估,重复定量给药和评估(即多个时间点),及从临床前结果(小动物)至临床结果(人)的潜在可转换效应。对于一些应用,生物成像代替或最少化临床前研究中动物实验的数目。

[0774] 肽标记方法是公知的。参见 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 (1975)Chemical Modification of Proteins.Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology(T.S.Work 和 E.Work 编)American Elsevier Publishing Co.,New York;Lundblad,R.L. 和 Noyes,C.M.(1984)Chemical Reagents for Protein Modification,卷 I 和 II,CRC Press,New York;Pfleiderer,G.(1985)"Chemical Modification of Proteins",Modern Methods in Protein Chemistry,H.Tschesche 编 ,Walter DeGryter,Berlin 和 New York; 及 Wong(1991)Chemistry of Protein Conjugation and Cross-linking,CRC Press,Boca Raton,Fla.);De Leon-Rodriguez 等(2004)Chem.Eur.J.10:1149-1155;Lewis 等 (2001)Bioconjugate Chem.12:320-324;Li 等(2002)Bioconjugate Chem.13:110-115;Mier 等 (2005)Bioconjugate Chem.16:240-237。

[0775] 用两种模块即荧光报道物和淬灭剂标记的肽和蛋白质在足够接近时经历荧光共振能量转移 (FRET)。报道物基团典型地是荧光染料,其由某个波长的光激发并转移能量给受体或淬灭剂基团,这具有合适的斯托克司频移 (Stokes shift) 以在最高亮度发光。荧光染料包括具有扩展芳香性 (extended aromaticity) 的分子,诸如荧光素和罗丹明及其衍生物。荧光报道物可以由完整肽中的淬灭剂模块部分地或显著地淬灭。在肽酶或蛋白酶切割肽后,可以测量可检测的荧光增加 (Knight,C.(1995) "Fluorimetric Assays of Proteolytic Enzymes",Methods in Enzymology,Academic Press,248:18-34)。

[0776] 经过标记的本发明抗体还可以用作亲和纯化剂。在该方法中,使用本领域公知的方法将经过标记的抗体固定化在固相(诸如 Sephadex 树脂或滤纸)上。使固定化的抗体与含有待纯化抗原的样品接触,其后用合适的溶剂清洗支持物,这会清除该样品中除待纯化抗原(其结合至固定化的多肽变体)以外的基本上所有材料。最后,用另一种合适的溶

剂（诸如甘氨酸缓冲液，pH5.0）清洗支持物，这会从多肽变体中释放抗原。

[0777] 标记试剂典型地具有反应性官能度，其可以（i）与半胱氨酸改造抗体的半胱氨酸硫醇直接反应以形成经过标记的抗体，（ii）与接头试剂反应以形成接头-标记物中间体，或（iii）与接头抗体反应以形成经过标记的抗体。标记试剂的反应性官能度包括：马来酰亚胺、卤乙酰基、碘乙酰胺琥珀酰亚氨基酯（例如NHS，N-羟基琥珀酰亚胺）、异硫氰酸盐/酯、磺酰氯、2,6-二氯三嗪基、五氟苯基酯和亚磷酰胺，尽管还可以使用其它官能团。

[0778] 例示性的反应性官能团是可检测标记物（例如生物素或荧光染料）的羧基取代基的N-羟基琥珀酰亚氨基酯（NHS）。可以预制、分离、纯化和/或表征该标记物的NHS酯，或者可以使其原位形成并与抗体的亲核基团起反应。典型地，将羧基形式的标记物通过与碳二亚胺试剂（例如二环己基碳二亚胺、二异丙基碳二亚胺）或脲阳离子试剂（例如TSTU(O-(N-琥珀酰亚氨基)-N,N,N',N'-四甲基脲四氟硼酸盐/酯)、HBTU((O-苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐/酯）或HATU((O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐/酯)、活化剂（诸如1-羟基苯并三唑(HOBt)）和N-羟基琥珀酰亚胺的一些组合起反应而活化以给出该标记物的NHS酯。在一些情况中，可以通过标记物的原位活化和与抗体反应来偶联标记物和抗体以在一个步骤中形成标记物-抗体偶联物。其它活化和偶联试剂包括TBTU(2-(1H-苯并三唑-1-基)-1-1,3,3-四甲基脲六氟磷酸盐/酯)、TFFH(N,N',N",N'"-四甲基脲2-氟-六氟磷酸盐/酯)、PyBOP(苯并三唑-1-基-氧-三吡咯烷膦六氟磷酸盐/酯)、EEDQ(2-乙氧基-1-乙氧羰基-1,2-二氢-喹啉)、DCC(二环己基碳二亚胺)、DIPCDI(二异丙基碳二亚胺)、MSNT(1-(均三甲基苯-2-磺酰)-3-硝基-1H-1,2,4-三唑和芳基磺酰卤化物（例如三异丙基苯磺酰氯）。

[0779] 本发明的清蛋白结合肽-Fab化合物：

[0780] 在一个方面，本发明的抗体融合至清蛋白结合蛋白。血浆蛋白结合可以是改善短命分子的药动学性质的有效手段。清蛋白是血浆中最丰富的蛋白质。血清清蛋白结合肽(ABP)可以改变所融合的活性结构域蛋白质的药效学，包括改变组织摄取、渗透和扩散。可以通过合适的血清清蛋白结合肽序列的具体选择来调控这些药效学参数(US 20040001827)。通过噬菌体展示筛选鉴定了一系列清蛋白结合肽(Dennis等(2002)"Albumin Binding As A General Strategy For Improving The Pharmacokinetics Of Proteins"J Biol Chem.277:35035-35043;WO 01/45746)。本发明的化合物包括由下列文献所教导的ABP序列：(i)Dennis等(2002)J Biol Chem.277:35035-35043表III和IV，第35038页；(ii)US 20040001827段[0076]SEQ ID NO:9-22；和(iii)WO 01/45746，第12-13页，都收入本文作为参考。通过以1:1化学计量比(1ABP/1Fab)将清蛋白结合肽融合至Fab重链的C末端来改造清蛋白结合(ABP)-Fab。显示了这些ABP-Fab与清蛋白的结合使抗体在家兔和小鼠中的半衰期增加了25倍多。因此，可以将上述反应性Cys残基导入这些ABP-Fab，并用于与细胞毒性药物的位点特异性偶联，接着是体内动物研究。

[0781] 例示性的清蛋白结合肽序列包括但不限于SEQ ID NO:246-250中列出的氨基酸序列：

[0782]

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

[0783] 抗体 - 药物偶联物

[0784] 在另一个方面，本发明提供了包含偶联有细胞毒剂的抗体的免疫偶联物或抗体 - 药物偶联物 (ADC)，所述细胞毒剂诸如化疗剂、药物、生长抑制剂、毒素（例如细菌、真菌、植物或动物起源的酶活性毒素或其片段）或放射性同位素（即放射偶联物）。在另一个方面，本发明进一步提供了使用免疫偶联物的方法。在一个方面，免疫偶联物包含共价附着至细胞毒剂或可检测试剂的任何上述抗 CD79b 抗体。

[0785] 一方面，本发明的 CD79b 抗体结合 CD79b 上另一种 CD79b 抗体所结合的同一表位。在另一个实施方案中，本发明的 CD79b 抗体结合 CD79b 上如下 Fab 片段（自 1993 年 7 月 20 日保藏于 ATCC 的杂交瘤 HB11413 生成的单克隆抗体、包含可变域 SEQ ID NO:10（图 7A-7B）和 SEQ ID NO:14（图 8A-8B）的单克隆抗体的 Fab 片段）或如下嵌合抗体（包含自 1993 年 7 月 20 日保藏于 ATCC 的 HB11413 杂交瘤生成的抗体的可变域或包含序列 SEQ ID NO:10（图 7A-7B）和 SEQ ID NO:14（图 8A-8B）的单克隆抗体的可变域及 IgG1 的恒定域的嵌和抗体）所结合的同一表位。在另一个实施方案中，本发明的 CD79b 抗体结合 CD79b 上另一种 CD79b 抗体（即 CB3.1(BD Biosciences 产品目录号 555678 ;San Jose,CA)、AT105-1(AbD Serotec 产品目录号 MCA2208 ;Raleigh,NC)、AT107-2(AbD Serotec 产品目录号 MCA2209)、抗人 CD79b 抗体 (BD Biosciences 产品目录号 557592 ;San Jose,CA)）所结合的同一表位。

[0786] 另一方面，本发明的 CD79b 抗体结合 CD79b 上与另一种 CD79b 抗体所结合的表位不同的表位。在另一个实施方案中，本发明的 CD79b 抗体结合 CD79b 上与如下 Fab 片段（自 1993 年 7 月 20 日保藏于 ATCC 的 HB11413 杂交瘤生成的单克隆抗体、包含可变域 SEQ ID NO:10（图 7A-7B）和 SEQ ID NO:14（图 8A-8B）的单克隆抗体的 Fab 片段）或如下嵌合抗体（包含自 1993 年 7 月 20 日保藏于 ATCC 的 HB11413 杂交瘤生成的抗体的可变域或包含序列 SEQ ID NO:10（图 7A-7B）和 SEQ ID NO:14（图 8A-8B）的单克隆抗体的可变域及 IgG1 的恒定域的嵌合抗体）所结合的表位不同的表位。在另一个实施方案中，本发明的 CD79b 抗体结合 CD79b 上与另一种 CD79b 抗体（即 CB3.1(BD Biosciences 产品目录号 555678 ;San Jose,CA)、AT105-1(AbD Serotec 产品目录号 MCA2208 ;Raleigh,NC)、AT107-2(AbD Serotec 产品目录号 MCA2209)、抗人 CD79b 抗体 (BD Biosciences 产品目录号 557592 ;San Jose,CA)）所结合的表位不同的表位。

[0787] 另一方面，本发明的 CD79b 抗体不同于（即不是）自 1993 年 7 月 20 日保藏于 ATCC 的杂交瘤 HB11413 生成的单克隆抗体、包含可变域 SEQ ID NO:10（图 7A-7B）和 SEQ ID NO:14（图 8A-8B）的单克隆抗体、或包含自 1993 年 7 月 20 日保藏于 ATCC 的杂交瘤 HB11413 生成的抗体的可变域及 IgG1 的恒定域的嵌合抗体的 Fab 片段，或不同于（即不是）包含序列 SEQ ID NO:10（图 7A-7B）和 SEQ ID NO:14（图 8A-8B）的单克隆抗体的可变域。在另一个实施方案中，本发明的 CD79b 抗体不同于（即不是）另一种 CD79b 抗体（即

CB3.1(BD Biosciences 产品目录号 555678 ;San Jose,CA)、AT105-1(AbD Serotec 产品目录号 MCA2208 ;Raleigh,NC)、AT107-2(AbD Serotec 产品目录号 MCA2209)、抗人 CD79b 抗体(BD Biosciences 产品目录号 557592 ;San Jose,CA)) 的 Fab 片段。

[0788] 一方面,本发明抗体特异性结合第一动物物种的 CD79b,且不特异性结合第二动物物种的 CD79b。在一个实施方案中,所述第一物种是人和 / 或灵长类 (例如猕猴),而所述第二动物物种是鼠 (例如小鼠) 和 / 或犬科动物。在一个实施方案中,所述第一动物物种是人。在一个实施方案中,所述第一动物物种是灵长类,例如猕猴。在一个实施方案中,所述第二动物物种是鼠,例如小鼠。在一个实施方案中,所述第二动物物种是犬。

[0789] 一方面,本发明提供了包含一种或多种本发明抗体和载体的组合物。在一个实施方案中,所述载体是药学可接受。

[0790] 一方面,本发明提供了编码本发明 CD79b 抗体的核酸。

[0791] 一方面,本发明提供了包含本发明核酸的载体。

[0792] 一方面,本发明提供了包含本发明核酸或载体的宿主细胞。载体可以是任何类型的,例如重组载体,正如表达载体。可以使用多种宿主细胞之任一种。在一个实施方案中,宿主细胞是原核细胞,例如大肠杆菌 (E.coli)。在一个实施方案中,宿主细胞是真核细胞,例如哺乳动物细胞,诸如中国仓鼠卵巢 (CHO) 细胞。

[0793] 一方面,本发明提供了用于制备本发明抗体的方法。例如,本发明提供了制备 CD79b 抗体 (如本文中所定义的,包括其全长和片段) 的方法,所述方法包括在合适的宿主细胞中表达编码所述抗体 (或其片段) 的本发明载体并回收所述抗体。

[0794] 一方面,本发明提供了制品,其包括容器 ;和装在该容器内的组合物,其中所述组合物包含一种或多种本发明 CD79b 抗体。在一个实施方案中,所述组合物包含本发明的核酸。在一个实施方案中,包含抗体的组合物进一步包含载体,其在一些实施方案中是药学可接受的。在一个实施方案中,本发明的制品进一步包含关于给受试者施用所述组合物 (例如所述抗体) 的指令。

[0795] 一方面,本发明提供了试剂盒,其包括第一容器,其中装有包含一种或多种本发明 CD79b 抗体的组合物 ;和第二容器,其中装有缓冲液。在一个实施方案中,所述缓冲液是药学可接受的。在一个实施方案中,包含拮抗性抗体的组合物进一步包含载体,其在一些实施方案中是药学可接受的。在一个实施方案中,试剂盒进一步包含关于向受试者施用所述组合物 (例如所述抗体) 的指令。

[0796] 一方面,本发明提供了本发明的 CD79b 抗体在制备用于疾病 (诸如癌症、肿瘤和 / 或细胞增殖性病症) 治疗性和 / 或预防性处理的药物中的用途。在一个实施方案中,癌症、肿瘤和 / 或细胞增殖性病症选自淋巴瘤、非何杰金氏淋巴瘤 (NHL)、攻击性 NHL、复发性攻击性 NHL、复发性无痛性 NHL、顽固性 NHL、顽固性无痛性 NHL、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)、小淋巴细胞淋巴瘤、白血病、毛细胞白血病 (HCL)、急性淋巴细胞性白血病 (ALL) 和套细胞淋巴瘤。

[0797] 一方面,本发明提供了本发明的核酸在制备用于疾病 (诸如癌症、肿瘤和 / 或细胞增殖性病症) 治疗性和 / 或预防性处理的药物中的用途。在一个实施方案中,癌症、肿瘤和 / 或细胞增殖性病症选自淋巴瘤、非何杰金氏淋巴瘤 (NHL)、攻击性 NHL、复发性攻击性 NHL、复发性无痛性 NHL、顽固性 NHL、顽固性无痛性 NHL、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)、小淋巴细

胞淋巴瘤、白血病、毛细胞白血病 (HCL)、急性淋巴细胞性白血病 (ALL) 和套细胞淋巴瘤。

[0798] 一方面，本发明提供了本发明的表达载体在制备用于疾病（诸如癌症、肿瘤和 / 或细胞增殖性病症）治疗性和 / 或预防性处理的药物中的用途。在一个实施方案中，癌症、肿瘤和 / 或细胞增殖性病症选自淋巴瘤、非何杰金氏淋巴瘤 (NHL)、攻击性 NHL、复发性攻击性 NHL、复发性无痛性 NHL、顽固性 NHL、顽固性无痛性 NHL、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)、小淋巴细胞淋巴瘤、白血病、毛细胞白血病 (HCL)、急性淋巴细胞性白血病 (ALL) 和套细胞淋巴瘤。

[0799] 一方面，本发明提供了本发明的宿主细胞在制备用于疾病（诸如癌症、肿瘤和 / 或细胞增殖性病症）治疗性和 / 或预防性处理的药物中的用途。在一个实施方案中，癌症、肿瘤和 / 或细胞增殖性病症选自淋巴瘤、非何杰金氏淋巴瘤 (NHL)、攻击性 NHL、复发性攻击性 NHL、复发性无痛性 NHL、顽固性 NHL、顽固性无痛性 NHL、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)、小淋巴细胞淋巴瘤、白血病、毛细胞白血病 (HCL)、急性淋巴细胞性白血病 (ALL) 和套细胞淋巴瘤。

[0800] 一方面，本发明提供了本发明的制品在制备用于疾病（诸如癌症、肿瘤和 / 或细胞增殖性病症）治疗性和 / 或预防性处理的药物中的用途。在一个实施方案中，癌症、肿瘤和 / 或细胞增殖性病症选自淋巴瘤、非何杰金氏淋巴瘤 (NHL)、攻击性 NHL、复发性攻击性 NHL、复发性无痛性 NHL、顽固性 NHL、顽固性无痛性 NHL、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)、小淋巴细胞淋巴瘤、白血病、毛细胞白血病 (HCL)、急性淋巴细胞性白血病 (ALL) 和套细胞淋巴瘤。

[0801] 一方面，本发明提供了本发明的试剂盒在制备用于疾病（诸如癌症、肿瘤和 / 或细胞增殖性病症）治疗性和 / 或预防性处理的药物中的用途。在一个实施方案中，癌症、肿瘤和 / 或细胞增殖性病症选自淋巴瘤、非何杰金氏淋巴瘤 (NHL)、攻击性 NHL、复发性攻击性 NHL、复发性无痛性 NHL、顽固性 NHL、顽固性无痛性 NHL、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)、小淋巴细胞淋巴瘤、白血病、毛细胞白血病 (HCL)、急性淋巴细胞性白血病 (ALL) 和套细胞淋巴瘤。

[0802] 一方面，本发明提供了抑制表达 CD79b 的细胞生长的方法，所述方法包括使所述细胞接触本发明抗体，由此引起对所述细胞生长的抑制。在一个实施方案中，所述抗体是偶联至细胞毒剂的。在一个实施方案中，所述抗体是偶联至生长抑制剂的。

[0803] 一方面，本发明提供了治疗性处理患有包含表达 CD79b 的细胞的癌性肿瘤的哺乳动物的方法，所述方法包括给所述哺乳动物施用治疗性有效量的本发明抗体，由此有效治疗所述哺乳动物。在一个实施方案中，所述抗体是偶联至细胞毒剂的。在一个实施方案中，所述抗体是偶联至生长抑制剂的。

[0804] 一方面，本发明提供了用于治疗或预防与 CD79b 表达升高有关的细胞增殖性病症的方法，所述方法包括给需要此类治疗的受试者施用有效量的本发明抗体，由此有效治疗或预防所述细胞增殖性病症。在一个实施方案中，所述增殖性病症是癌症。在一个实施方案中，所述抗体是偶联至细胞毒剂的。在一个实施方案中，所述抗体是偶联至生长抑制剂的。

[0805] 一方面，本发明提供了抑制细胞生长的方法，其中所述细胞的生长至少部分依赖于 CD79b 的生长强化效应，所述方法包括使所述细胞接触有效量的本发明抗体，由此抑制所述细胞的生长。在一个实施方案中，所述抗体是偶联至细胞毒剂的。在一个实施方案中，所述抗体是偶联至生长抑制剂的。

[0806] 一方面，本发明提供了治疗性处理哺乳动物中的肿瘤的方法，其中所述肿瘤的生长至少部分依赖于 CD79b 的生长强化效应，所述方法包括使所述细胞接触有效量的本发明抗体，由此有效治疗所述肿瘤。在一个实施方案中，所述抗体是偶联至细胞毒剂的。在一个实施方案中，所述抗体是偶联至生长抑制剂的。

[0807] 一方面，本发明提供了治疗癌症的方法，包含给患者施用包含本文所述免疫偶联物、可接受的稀释剂、载体或赋形剂的药物配制剂。在一个实施方案中，所述癌症选自淋巴瘤、非何杰金氏淋巴瘤 (NHL)、攻击性 NHL、复发性攻击性 NHL、复发性无痛性 NHL、顽固性 NHL、顽固性无痛性 NHL、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)、小淋巴细胞淋巴瘤、白血病、毛细胞白血病 (HCL)、急性淋巴细胞性白血病 (ALL) 和套细胞淋巴瘤。在一个实施方案中，与所述抗体 - 药物偶联物化合物组合地给所述患者施用细胞毒剂。

[0808] 一方面，本发明提供了抑制 B 细胞增殖的方法，包括在允许下述免疫偶联物结合至 CD79b 的条件下使细胞暴露于包含本发明抗体的免疫偶联物。在一个实施方案中，所述 B 细胞增殖选自淋巴瘤、非何杰金氏淋巴瘤 (NHL)、攻击性 NHL、复发性攻击性 NHL、复发性无痛性 NHL、顽固性 NHL、顽固性无痛性 NHL、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)、小淋巴细胞淋巴瘤、白血病、毛细胞白血病 (HCL)、急性淋巴细胞性白血病 (ALL) 和套细胞淋巴瘤。在一个实施方案中，所述 B 细胞是异种移植物。在一个实施方案中，所述暴露发生于体外。在一个实施方案中，所述暴露发生于体内。

[0809] 一方面，本发明提供了测定怀疑含有 CD79b 的生物学样品中 CD79b 的存在情况的方法，所述方法包括使所述样品暴露于本发明的抗体，并测定所述抗体对所述样品中 CD79b 的结合，其中所述抗体结合至所述样品中的 CD79b 指示所述样品中存在所述蛋白质。在一个实施方案中，所述样品是生物学样品。在又一个实施方案中，所述生物学样品包含 B 细胞。在一个实施方案中，所述生物学样品来自经历或怀疑经历 B 细胞病症和 / 或 B 细胞增殖性病症的哺乳动物，所述 B 细胞病症和 / 或 B 细胞增殖性病症包括但不限于淋巴瘤、非何杰金氏淋巴瘤 (NHL)、攻击性 NHL、复发性攻击性 NHL、复发性无痛性 NHL、顽固性 NHL、顽固性无痛性 NHL、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)、小淋巴细胞淋巴瘤、白血病、毛细胞白血病 (HCL)、急性淋巴细胞性白血病 (ALL) 和套细胞淋巴瘤。

[0810] 一方面，提供了诊断与表达 CD79b 的细胞（诸如 B 细胞）增多有关的细胞增殖性病症的方法，所述方法包括使生物学样品中的测试细胞接触任何上述细胞；通过检测所述抗体对 CD79b 的结合来测定结合至所述样品中测试细胞的抗体的水平；并比较结合至对照样品中细胞的抗体的水平，其中将所结合的抗体的水平相对于测试和对照样品中表达 CD79b 的细胞的数目标准化，且其中测试样品中所结合的抗体的水平高于对照样品指明存在与表达 CD79b 的细胞有关的细胞增殖性病症。

[0811] 一方面，提供了检测血液或血清中可溶性 CD79b 的方法，所述方法包括使来自怀疑经历 B 细胞增殖性病症的哺乳动物的血液或血清测试样品接触本发明的抗 CD79b 抗体，并检测测试样品中可溶性 CD79b 相对于来自正常哺乳动物的血液或血清对照样品的升高。在一个实施方案中，所述检测方法作为诊断与哺乳动物血液或血清中可溶性 CD79b 升高有关的 B 细胞增殖性病症的方法是有用的。

[0812] 一方面，提供了使本发明的抗体结合至表达 CD79b 的细胞的方法，所述方法包括使所述细胞接触本发明的抗体。在一个实施方案中，所述抗体是偶联至细胞毒剂的。在一

个实施方案中，所述抗体是偶联至生长抑制剂的。

[0813] 本发明的方法可用于改变任何合适的病理状态，例如与 CD79b 表达有关的细胞和 / 或组织。在一个实施方案中，本发明方法中所靶向的细胞是造血细胞。例如，造血细胞可以是选自下组的细胞 ：淋巴细胞、白细胞、血小板、红细胞和天然杀伤细胞。在一个实施方案中，本发明方法中所靶向的细胞是 B 细胞或 T 细胞。在一个实施方案中，本发明方法中所靶向的细胞是癌细胞。例如，癌症细胞可以是选自下组的细胞 ：淋巴瘤细胞、白血病细胞或骨髓瘤细胞。

[0814] 本发明的方法可进一步包括别的治疗步骤。例如在一个实施方案中，方法进一步包括其中使所靶向的细胞和 / 或组织（例如癌细胞）暴露于放射治疗或化疗剂的步骤。

[0815] 如本文中所描述的，CD79b 是 B 细胞受体的信号传导构件。因而，在本发明方法的一个实施方案中，所靶向的细胞（例如癌细胞）是与不表达 CD79b 的细胞相比表达 CD79b 的细胞。在又一个实施方案中，所靶向的细胞是其中 CD79b 表达与同一组织类型的正常非癌细胞相比得到增强的癌细胞。在一个实施方案中，本发明的方法引起所靶向的细胞死亡。

[0816] 在本发明的其它方面，本发明提供了包含编码任何本文所述抗体的 DNA 的载体。还提供了包含任何此类载体的宿主细胞。举例而言，所述宿主细胞可以是 CHO 细胞、大肠杆菌细胞或酵母细胞。进一步提供了用于生成任何本文所述抗体的方法，包括在适合于期望抗体表达的条件下培养宿主细胞并自所述细胞培养物回收所述期望抗体。

[0817] 在有一个方面，本发明关注包含与载体组合的本文所述抗 CD79b 抗体的组合物。任选的是，所述载体是药学可接受载体。

[0818] 本发明的另一个方面致力于本文所述抗 CD79b 多肽抗体用于制备在对所述抗 CD79b 多肽抗体有响应的疾患的治疗中有用的药物的用途。

[0819] 本发明的另一个方面是包含式 I 的抗体 - 药物化合物的混合物的组合物，其中每个抗体的平均药物载荷是约 2 个至约 5 个或约 3 个至约 4 个。

[0820] 本发明的另一个方面是包含式 I ADC 化合物、式 I ADC 化合物的混合物或其药学可接受盐或溶剂合物、及药学可接受稀释剂、载体或赋形剂的药物组合物。

[0821] 另一个方面提供了包含式 I ADC 化合物和具有抗癌特性或其它治疗效果的第二化合物的药物组合。

[0822] 另一个方面是用于杀死肿瘤细胞或癌细胞或抑制肿瘤细胞或癌细胞增殖的方法，包括用有效杀死肿瘤细胞或癌细胞或抑制肿瘤细胞或癌细胞增殖的量的式 I 抗体 - 药物偶联物或其药学可接受盐或溶剂合物处理所述细胞。

[0823] 另一个方面是治疗癌症的方法，包括给患者施用治疗性有效量的包含式 I ADC 的药物组合物。

[0824] 另一个方面包括制品，即试剂盒，其包括抗体 - 药物偶联物、容器和指示治疗方法的包装插页或标签。

[0825] 本发明的一个方面是制备式 I 抗体 - 药物偶联物化合物的方法，包含下列步骤 ：(a) 使半胱氨酸改造抗体的改造半胱氨酸基团与接头试剂起反应以形成抗体 - 接头中间体 Ab-L ；并 (b) 使 Ab-L 与活化的药物模块 D 起反应 ；由此抗体 - 药物偶联物形成 ；或包括下列步骤 ：(c) 使药物模块的亲核基团与接头试剂起反应以形成药物 - 接头中间体 D-L ；并 (d) 使 D-L 与半胱氨酸改造抗体的改造半胱氨酸基团起反应 ；由此抗体 - 药物偶联物形成。

[0826] 本发明的一个方面是用于检测癌细胞的测定法，包括：(a) 使细胞暴露于半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体 - 药物偶联物；并 (b) 测定所述半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体 - 药物偶联物化合物对所述细胞的结合程度。

[0827] A. 抗 CD79b 抗体

[0828] 在一个实施方案中，本发明提供了可在本文中用作治疗剂的抗 CD79b 抗体。例示性的抗体包括多克隆的、单克隆的、人源化的、双特异性的和异源偶联的抗体。

[0829] 1. 多克隆抗体

[0830] 多克隆抗体优选通过在动物中多次皮下 (sc) 或腹膜内 (ip) 注射相关抗原和佐剂来生成。将相关抗原（尤其在使用合成肽时）与在待免疫的物种中有免疫原性的蛋白质偶联可能是有用的。例如，可使用双功能或衍生化试剂，例如马来酰亚胺苯甲酰磺基琥珀酰亚胺酯（经半胱氨酸残基的偶联）、N- 羟基琥珀酰亚胺（经赖氨酸残基）、戊二醛、琥珀酸酐、$SOCl_2$ 或 $R^1N=C=NR$，其中 R 和 R^1 是不同的烃基，将抗原与匙孔虫戚血蓝蛋白 (KLH)、血清清蛋白、牛甲状腺球蛋白或大豆胰蛋白酶抑制剂偶联。

[0831] 通过将例如 100μg 或 5μg 蛋白质或偶联物（分别用于家兔或小鼠）与 3 倍体积的弗氏完全佐剂混和，并将溶液皮内注射于多个部位，由此将动物针对抗原、免疫原性偶联物或衍生物进行免疫。一个月后，通过多个部位的皮下注射，用弗氏完全佐剂中 1/5-1/10 初始量的肽或偶联物对动物进行强化免疫。7-14 天后，采集动物的血液，并测定血清的抗体滴度。对动物进行强化直到滴度达到稳定的高水平。偶联物还可在重组细胞培养物中作为蛋白质融合物来制备。同样，适当使用凝聚剂诸如明矾来增强免疫应答。

[0832] 2. 单克隆抗体

[0833] 单克隆抗体可以使用最初由 Kohler 等，Nature 256:495(1975) 记载的杂交瘤方法来制备，或者可以通过重组 DNA 方法来制备（美国专利 No.4,816,567）。

[0834] 在杂交瘤方法中，如上所述免疫小鼠或其它合适的宿主动物，诸如仓鼠，以引发生成或能够生成如下抗体的淋巴细胞，所述抗体会特异性结合用于免疫的蛋白质。或者，可以在体外免疫淋巴细胞。免疫后，分离淋巴细胞，然后使用合适的融合剂诸如聚乙二醇将淋巴细胞与骨髓瘤细胞系融合，形成杂交瘤细胞 (Goding,Monoclonal Antibodies:Principles and Practice,pp.59-103,Academic Press,1986)。

[0835] 将如此制备的杂交瘤细胞在合适的培养基中接种和培养，所述培养基优选含有抑制未融合的亲本骨髓瘤细胞（也称作融合配偶）生长或存活的一种或多种物质。例如，如果亲本骨髓瘤细胞缺乏次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖转移酶 (HGPRT 或 HPRT)，那么用于杂交瘤的选择性培养基通常会含有次黄嘌呤、氨基喋呤和胸苷 (HAT 培养基)，这些物质阻止 HGPRT 缺陷细胞生长。

[0836] 优选的融合配偶骨髓瘤细胞是那些高效融合、支持选择的抗体生成细胞稳定地高水平生成抗体、并对针对未融合亲本细胞进行选择的选择性培养基敏感的骨髓瘤细胞。优选的骨髓瘤细胞系是鼠骨髓瘤系，诸如可从索尔克研究所细胞分配中心 (Salk Institute Cell Distribution Center，San Diege，California，USA) 获得的 MOPC-21 和 MPC-11 小鼠肿瘤所衍生的细胞系，以及可从美国典型培养物保藏中心 (American Type Culture Collection，Manassas，Virginia，USA) 获得的 SP-2 及衍生物，例如 X63-Ag8-653 细胞。用于生成人单克隆抗体的人骨髓瘤和小鼠 - 人异源骨髓瘤细胞系也已有描述 (Kozbor,J.

Immunol.133:3001(1984);及Brodeur等,Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications,pp.51-63,Marcel Dekker,Inc.,New York,1987)。

[0837] 可对杂交瘤细胞正在其中生长的培养基测定针对抗原的单克隆抗体的生成。优选的是,通过免疫沉淀或通过体外结合测定法,诸如放射性免疫测定法(RIA)或酶联免疫吸附测定法(ELISA),测定由杂交瘤细胞生成的单克隆抗体的结合特异性。

[0838] 单克隆抗体的结合亲和力可通过例如Munson等,Anal.Biochem.107:220(1980)中记载的Scatchard分析来测定。

[0839] 一旦鉴定得到生成具有所需特异性、亲和力和/或活性的抗体的杂交瘤细胞,所述克隆可通过有限稀释流程进行亚克隆,并通过标准方法进行培养(Goding,Monoclonal Antibodies:Principles and Practice,pp.59-103,Academic Press,1986)。适于这一目的的培养基包括例如D-MEM或RPMI-1640培养基。另外,杂交瘤细胞可在动物中作为腹水瘤进行体内培养,例如通过将细胞i.p.注射到小鼠中。

[0840] 可通过常规抗体纯化流程,诸如例如亲和层析(例如使用蛋白A或蛋白G-Sepharose)或离子交换层析、羟磷灰石层析、凝胶电泳、透析等,将亚克隆分泌的单克隆抗体与培养基、腹水或血清适当分开。

[0841] 编码单克隆抗体的DNA易于使用常规流程分离并测序(例如通过使用能够与编码鼠抗体重链和轻链的基因特异性结合的寡核苷酸探针)。以杂交瘤细胞作为此类DNA的优选来源。一旦分离,可将DNA置于表达载体中,然后将该表达载体转染到不另外产生抗体蛋白质的宿主细胞中,诸如大肠杆菌细胞、猿COS细胞、中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或骨髓瘤细胞,以在重组宿主细胞中获得单克隆抗体的合成。关于编码抗体的DNA在细菌中的重组表达的综述性论文包括Skerra等,Curr.Opinion in Immunol.5:256-262(1993)及Plückthun,Immunol.Revs.130:151-188(1992)。

[0842] 在另一个实施方案中,可从使用McCafferty等,Nature 348:552-554(1990)所述技术构建的噬菌体抗体文库中分离单克隆抗体或抗体片段。Clackson等,Nature 352:624-628(1991)及Marks等,J.Mol.Biol.222:581-597(1991)分别描述了使用噬菌体文库分离鼠抗体和人抗体。后续出版物描述了通过链改组(Marks等,Bio/Technology 10:779-783(1992)),以及组合感染和体内重组作为构建非常大的噬菌体文库的策略(Waterhouse等,Nuc.Acids Res.21:2265-2266(1993)),生成高亲和力(nM范围)的人抗体。如此,这些技术是用于分离单克隆抗体的传统单克隆抗体杂交瘤技术的可行替换方法。

[0843] 可以修饰编码抗体的DNA以生成嵌合或融合抗体多肽,例如通过用人重链和轻链恒定域(C_H和C_L)序列替代同源鼠序列(美国专利No.4,816,567;及Morrison等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 81:6851(1984)),或通过融合免疫球蛋白编码序列和非免疫球蛋白多肽(异源多肽)的整个或部分编码序列。非免疫球蛋白多肽序列可替代抗体的恒定域,或者用它们替代抗体的一个抗原结合位点的可变域,以产生嵌合二价抗体,它包含对一种抗原具有特异性的一个抗原结合位点以及对不同抗原具有特异性的另一个抗原结合位点。

[0844] 3.人抗体和人源化抗体

[0845] 本发明的抗CD79b抗体可进一步包括人源化抗体或人抗体。非人(例如鼠)抗体的人源化形式指最低限度包含自非人免疫球蛋白衍生的序列的嵌合免疫球蛋白、免疫球蛋白链或其片段(诸如Fv、Fab、Fab'、$F(ab')_2$或抗体的其它抗原结合子序列)。人源化

抗体包括人免疫球蛋白（受体抗体）中的互补决定区 (CDR) 残基用具有期望特异性、亲和力和能力的非人物种（供体抗体）诸如小鼠、大鼠或家兔的 CDR 残基替换而得到的免疫球蛋白。在有些情况中，将人免疫球蛋白的 Fv 框架残基用相应的非人残基替换。人源化抗体还可包含在受体抗体或所输入的 CDR 或框架序列中没有发现的残基。通常，人源化抗体包含至少一个、通常两个基本上整个如下的可变域，其中所有或基本上所有 CDR 区对应于非人免疫球蛋白的 CDR 区，且所有或基本上所有 FR 区是人免疫球蛋白共有序列的 FR 区。人源化抗体最好还包含至少部分免疫球蛋白恒定区 (Fc)，通常是人免疫球蛋白的恒定区 (Jones 等，Nature 321:522-525(1986)；Riechmann 等，Nature 332:323-329(1988)；及 Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596(1992))。

[0846] 用于将非人抗体人源化的方法在本领域是众所周知的。通常，人源化抗体具有一个或多个从非人来源引入的氨基酸残基。这些非人氨基酸残基常常称作“输入”残基，它们通常取自“输入”可变域。人源化可基本上依照 Winter 及其同事的方法实施 (Jones 等，Nature 321:522-525(1986)；Riechmann 等，Nature 332:323-327(1988)；Verhoeyen 等，Science 239:1534-1536(1988))，通过用啮齿类 CDR 序列替代相应的人抗体序列来进行。因而，此类“人源化”抗体是嵌合抗体（美国专利 No. 4,816,567)，其中基本上少于整个人可变域用来自非人物种的相应序列替代。在实践中，人源化抗体通常是将人抗体中的一些 CDR 残基和可能的一些 FR 残基用来自啮齿类抗体中类似位点的残基替代而得到的抗体。

[0847] 当抗体意图在于人类治疗性用途时，用于生成人源化抗体的人可变域的选择，包括轻链和重链二者，对于降低抗原性和 HAMA 应答（人抗小鼠抗体）非常重要。HAMA 应答降低或消除是合适治疗剂的临床开发的一个重要方面。参见例如 Khaxzaeli 等，J. Natl. Cancer Inst. (1988), 80:937；Jaffers 等，Transplantation (1986), 41:572；Shawler 等，J. Immunol. (1985), 135:1530；Sears 等，J. Biol. Response Mod (1984), 3:138；Miller 等，Blood (1983), 62:988；Hakimi 等，J. Immunol. (1991), 147:1352；Reichmann 等，Nature (1988), 332:323；Junghans 等，Cancer Res (1990), 50:1495。如本文中所描述的，本发明提供了经人源化使得 HAMA 应答降低或消除的抗体。可使用本领域已知的常规方法（其中有些在下文中有进一步描述）进一步获得这些抗体的变体。依照所谓的“最适 (best-fit)”方法，用啮齿类抗体可变域序列对已知的人可变域序列的整个文库进行筛选。鉴定与啮齿类最接近的人 V 结构域序列，并接受其中的人框架区 (FR) 用于人源化抗体 (Sims 等，J. Immunol. 151:2296(1993)；Chothia 等，J. Mol. Biol. 196:901(1987))。另一种方法使用自轻链或重链特定亚型的所有人抗体的共有序列衍生的特定框架区。同一框架可用于数种不同的人源化抗体 (Carter 等，Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:4285(1992)；Presta 等，J. Immunol. 151:2623(1993))。

[0848] 例如，来自本文所述抗体的氨基酸序列可充当框架和 / 或高变序列多样化的起始（亲本）序列。起始高变序列所连接的选定框架序列在本文中称为受体人框架。尽管受体人框架可来自或衍生自人免疫球蛋白（其 VL 和 / 或 VH 区），优选受体人框架来自或衍生自人共有框架序列，因为这样的框架已证实在人类患者中具有最小免疫原性或者没有免疫原性。

[0849] 当受体衍生自人免疫球蛋白时，可任选选择根据它与供体框架序列的同源性而选择的人框架序列，即将供体框架序列与人框架序列集合中的各种人框架序列比对，并选择

最具同源性的框架序列作为受体。

[0850] 在一个实施方案中，本文中的人共有框架来自或衍生自 VH 亚组 III 和 / 或 VLκ 亚组 I 共有框架序列。

[0851] 因此，VH 受体人框架可包含一种、两种、三种或所有如下框架序列：

[0852] FR1 包含 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS(SEQ ID NO:143)，

[0853] FR2 包含 WVRQAPGKGLEWV(SEQ ID NO:144)，

[0854] FR3 包含 FR3 包含 RFTISX_1DX_2SKNTX_3YLQMNSLRAEDTAVYYC(SEQ ID NO:147)，其中 X_1 是 A 或 R，X_2 是 T 或 N，而 X_3 是 A 或 L，

[0855] FR4 包含 WGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:146)。

[0856] VH 共有框架的例子包括：

[0857] 人 VH 亚组 I 共有框架减去 Kabat CDR(SEQ ID NO:108)；

[0858] 人 VH 亚组 I 共有框架减去延伸的高变区 (SEQ ID NO:109-111)；

[0859] 人 VH 亚组 II 共有框架减去 Kabat CDR(SEQ ID NO:112)；

[0860] 人 VH 亚组 II 共有框架减去延伸的高变区 (SEQ ID NO:113-115)；

[0861] 人 VH 亚组 III 共有框架减去 Kabat CDR(SEQ ID NO:116)；

[0862] 人 VH 亚组 III 共有框架减去延伸的高变区 (SEQ ID NO:117-119)；

[0863] 人 VH 受体框架减去 Kabat CDR(SEQ ID NO:120)；

[0864] 人 VH 受体框架减去延伸的高变区 (SEQ ID NO:121-122)；

[0865] 人 VH 受体 2 框架减去 Kabat CDR(SEQ ID NO:123)；或

[0866] 人 VH 受体 2 框架减去延伸的高变区 (SEQ ID NO:124-126)。

[0867] 在一个实施方案中，VL 受体人框架可包含一种、两种、三种或所有如下框架序列：

[0868] FR1 包含 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS(SEQ ID NO:143)，

[0869] FR2 包含 WVRQAPGKGLEWV(SEQ ID NO:144)，

[0870] FR3 包含 RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYC(SEQ ID NO:145)，

[0871] RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCA(SEQ ID NO:148)，

[0872] RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR(SEQ ID NO:149)，

[0873] RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCS(SEQ ID NO:150)，或

[0874] RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSR(SEQ ID NO:151)

[0875] FR4 包含 WGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:146)。

[0876] VL 受体人框架可包含一种、两种、三种或所有如下框架序列：

[0877] FR1 包含 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC(SEQ ID NO:139)，

[0878] FR2 包含 WYQQKPGKAPKLLIY(SEQ ID NO:140)，

[0879] FR3 包含 GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC(SEQ ID NO:141)，

[0880] FR4 包含 FGQGTKVEIKR(SEQ ID NO:142)。

[0881] VL 共有框架的例子包括：

[0882] 人 VLκ 亚组 I 共有框架 (SEQ ID NO:127)；

[0883] 人 VLκ 亚组 II 共有框架 (SEQ ID NO:128)；

[0884] 人 VLκ 亚组 III 共有框架 (SEQ ID NO:129)；或

[0885] 人 VLκ 亚组 IV 共有框架 (SEQ ID NO:130)。

[0886] 虽然受体可在序列上与选定的人框架序列相同，无论它是来自人免疫球蛋白或人共有框架，在本发明中，受体序列可包含相对于人免疫球蛋白序列或人共有框架序列而言预先存在的氨基酸替代。这些预先存在的替代优选是最小限度的；通常相对于人免疫球蛋白序列或共有框架序列而言的仅四处、三处、两处或一处氨基酸差异。

[0887] 将非人抗体的高变区残基掺入 VL 和 / 或 VH 受体人框架。例如，可掺入对应于 Kabat CDR 残基、Chothia 高变环残基、Abm 残基和 / 或接触残基的残基。任选的是，掺入如下延伸的高变区残基：24-34(L1)、50-56(L2) 和 89-97(L3)，26-35B(H1)、50-65、47-65 或 49-65(H2) 和 93-102、94-102 或 95-102(H3)。

[0888] 虽然本文中讨论了高变区残基的“掺入”，但是应当领会这可以各种方式实现，例如编码期望氨基酸序列的核酸可通过突变编码小鼠可变域序列的核酸使得其框架残基改变成受体人框架残基，或者通过突变编码人可变域序列的核酸使得高变域残基改变成非人残基，或者通过合成编码期望序列的核酸等等而产生。

[0889] 在本文的例子中，高变区嫁接 (graft) 变体是使用各个高变区的各个寡核苷酸通过编码人受体序列的核酸的 Kunkel 诱变而产生的。Kunkel 等，Methods Enzymol. 154:367-382(1987)。可利用常规技术在框架和 / 或高变区内引入合适的改变以纠正和重建正确的高变区 - 抗原相互作用。

[0890] 噬菌体（噬菌粒）展示（本文在有些内容中也称为噬菌体展示）可作为方便快捷的方法用于在通过序列随机化构建的文库中生成和筛选许多不同的潜在变体抗体。然而，熟练技术人员可利用其它方法来制备和筛选改变的抗体。

[0891] 噬菌体（噬菌粒）展示技术为生成和选择与配体诸如抗原结合的新蛋白质提供了有力的工具。噬菌体（噬菌粒）展示技术的使用容许构建大型蛋白质变体文库，可从中快速分拣以高亲和力与靶分子结合的那些序列。通常将编码变体多肽的核酸与编码病毒外壳蛋白诸如基因 III 蛋白或基因 VIII 蛋白的核酸序列融合。已经开发出了其中编码蛋白质或多肽的核酸序列与编码基因 III 蛋白一部分的核酸序列融合的单价噬菌粒展示系统 (Bass, S., Proteins, 8:309(1990)；Lowman 和 Wells, Methods:A Companion to Methods in Enzymology, 3:205(1991))。在单价噬菌粒展示系统中，基因融合物以低水平表达，而且野生型基因 III 蛋白也表达，从而保留了粒子的侵染性。许多专利中已经公开了构建肽库和筛选那些文库的方法（例如美国专利 No. 5,723,286；美国专利 No. 5,432,018；美国专利 No. 5,580,717；美国专利 No. 5,427,908；和美国专利 No. 5,498,530)。

[0892] 已经以许多方式制备了抗体或抗原结合多肽的文库，包括通过插入随机 DNA 序列或通过克隆一族相关基因来改变单个基因。利用噬菌体（噬菌粒）展示来展示抗体或抗原结合片段的方法记载于美国专利 No. 5,750,373、5,733,743、5,837,242、5,969,108、6,172,197、5,580,717 和 5,658,727。然后对文库筛选具期望特性的抗体或抗原结合蛋白的表达。

[0893] 本领域已经建立了将所选择的氨基酸替代入模板核酸中的方法，本文中描述了其中的一些。例如，可使用 Kunkel 方法来替代高变区残基（参见例如 Kunkel et al., Methods Enzymol. 154:367-382(1987))。

[0894] 寡核苷酸序列包含待改变高变区残基的一个或多个期望密码子集合。密码子集合是用于编码期望变体氨基酸的不同核苷酸三联体序列的集合。密码子集合可用如下所示依

照 IUB 密码指定特定核苷酸或等摩尔核苷酸混合物的符号来表示。

[0895] IUB 代码

[0896] G 鸟嘌呤

[0897] A 腺嘌呤

[0898] T 胸腺嘧啶

[0899] C 胞嘧啶

[0900] R (A 或 G)

[0901] Y (C 或 T)

[0902] M (A 或 C)

[0903] K (G 或 T)

[0904] S (C 或 G)

[0905] W (A 或 T)

[0906] H (A 或 C 或 T)

[0907] B (C 或 G 或 T)

[0908] V (A 或 C 或 G)

[0909] D (A 或 G 或 T)

[0910] N (A 或 C 或 G 或 T)

[0911] 例如，在密码子集合 DVK 中，D 可以是核苷酸 A 或 G 或 T ；V 可以是 A 或 G 或 C ；而 K 可以是 G 或 T。此密码子集合可代表 18 种不同的密码子，而且可编码氨基酸 Ala、Trp、Tyr、Lys、Thr、Asn、Lys、Ser、Arg、Asp、Glu、Gly 和 Cys。

[0912] 寡核苷酸或引物集合可用标准方法合成。可通过例如固相合成来合成包含如下序列的一套寡核苷酸，所述序列代表密码子集合所提供的核苷酸三联体所有可能组合且会编码期望氨基酸集合。在某些位置具有选定核苷酸“简并性”的寡核苷酸的合成是本领域众所周知的。具有某些密码子集合的此类核苷酸集合可使用商品化核酸合成仪（可从例如 Applied Biosystems, Foster City, CA 购买）来合成，或者可通过商业途径获得（例如 Life Technologies, Rockville, MD）。因此，具有特定密码子集合的合成寡核苷酸集合会通常包括具有不同序列的众多寡核苷酸，所述差异由整个序列内的密码子集合确定。依照本发明使用的寡核苷酸具有容许与可变域核酸模板杂交的序列且还可包含用于克隆目的的限制酶位点。

[0913] 在一种方法中，可通过寡核苷酸介导的诱变来产生编码变体氨基酸的核酸序列。此技术是本领域众所周知的，如 Zoller 等，Nucleic Acids Res. 10:6487-6504(1987) 中所述。简单的说，编码变体氨基酸的核酸序列是如下产生的，将编码期望密码子集合的寡核苷酸集合与 DNA 模板杂交，其中模板是包含可变区核酸模板序列的单链形式质粒。杂交后，用 DNA 聚合酶合成模板的完整第二条互补链，其由此会掺入寡核苷酸引物，并会含有寡核苷酸集合所提供的密码子集合。

[0914] 通常使用长度为至少 25 个核苷酸的寡核苷酸。最佳寡核苷酸会有 12 至 15 个核苷酸与编码突变的核苷酸任一侧的模板完全互补。这确保了寡核苷酸会与单链 DNA 模板分子正确杂交。寡核苷酸易于使用本领域已知的技术合成，诸如 Crea 等，Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA, 75:5765(1978) 中所述。

[0915] DNA 模板是由衍生自噬菌体 M13 载体（商品化 M13mp18 和 M13mp19 载体是合适的）的那些载体或如 Viera 等，Meth.Enzymol.，153:3(1987) 中所述包含单链噬菌体复制起点的那些载体产生的。因此，为了产生单链模板，可将待突变的 DNA 插入这些载体之一。Sambrook 等（见上文）在第 4.21-4.41 节中记载了单链模板的产生。

[0916] 为了改变天然 DNA 序列，在合适的杂交条件下将寡核苷酸与单链模板杂交。然后加入 DNA 聚合酶，通常是 T7DNA 聚合酶或 DNA 聚合酶 I 的 Klenow 片段，以所述寡核苷酸作为合成的引物合成所述模板的互补链。由此形成异源双链体分子，其中 DNA 的一条链编码基因 1 的突变形式，另一条链（最初的模板）编码天然的、未改变的基因 1 序列。然后将此异源双链体分子转化到合适的宿主细胞中，通常是原核生物，诸如大肠杆菌 JM101。培养细胞后，将它们涂布到琼脂糖平板上，并用 32- 磷酸盐放射性标记的寡核苷酸引物进行筛选，以鉴定包含突变 DNA 的细菌菌落。

[0917] 可修改上文刚刚描述的方法，以便产生其中质粒两条链均包含突变的同源双链体分子。修改如下：如上所述将单链寡核苷酸与单链模板退火。将三种脱氧核糖核苷酸：脱氧核糖腺苷酸 (dATP)、脱氧核糖鸟苷酸 (dGTP) 和脱氧核糖胸苷酸 (dTT) 的混合物与称为 dCTP-(aS)（可从 Amersham 购买）的修饰硫代脱氧核糖胞苷酸混合。将此混合物加入模板 - 寡核苷酸复合物中。向此混合物中添加 DNA 聚合酶后，产生了除突变碱基外与模板相同的一条 DNA 链。此外，这条新的 DNA 链会包含 dCTP-(aS) 替代 dCTP，这用于保护它不受限制性内切核酸酶的消化。在用恰当的限制酶对双链异源双链体的模板链造成缺刻后，可用 ExoIII 核酸酶或其它适当的核酸酶消化模板链，越过包含待诱变位点的区域。然后终止反应，剩下只有部分是单链的分子。然后在存在所有四种脱氧核糖核苷三磷酸、ATP 和 DNA 连接酶的条件下用 DNA 聚合酶形成完整的双链 DNA 同源双链体。然后可将此同源双链体分子转化到合适的宿主细胞中。

[0918] 正如先前所指出的，寡核苷酸集合的序列在长度上足以与模板核酸杂交，而且还可以，但不是必须的，包含限制性位点。可由衍生自噬菌体 M13 载体或如 Viera 等，Meth.Enzymol.，153:3(1987) 中所述包含单链噬菌体复制起点的载体的那些载体生成 DNA 模板。因此，为了生成单链模板，必须将待突变 DNA 插入这些载体之一。Sambrook 等人（见上文）在第 4.21-4.41 节中记载了单链模板的产生。

[0919] 依照另一种方法，可以在抗体人源化期间经由对修复的高变区的选择来恢复抗原结合（参见 2005 年 2 月 18 日提交的申请 No.11/061,841）。该方法包括将非人高变区掺到受体框架上并进一步在一个或多个高变区中引入一处或多处替代，而不修饰受体框架序列。或者，一处或多处氨基酸替代的引入可伴有受体框架序列中的修饰。

[0920] 依照另一种方法，可如下构建文库，即提供上游和下游寡核苷酸集合，每个集合含有具有不同序列的众多寡核苷酸，即由寡核苷酸序列内所提供的密码子集合确定的不同序列。上游和下游寡核苷酸集合，与可变域模板核酸序列一起，可用于聚合酶链式反应 (PCR)，以产生 PCR 产物“文库”。PCR 产物可称为“核酸盒”，因为利用已建立的分子生物学技术，可将它们与其它相关或无关的核酸序列融合，例如病毒外壳蛋白和二聚化结构域。

[0921] PCR 引物序列包含高变区中溶剂可及的且高度多样的位置的一个或多个设计密码子集合。如上所述，密码子集合是用于编码期望变体氨基酸的不同核苷酸三联体序列的集合。

[0922] 通过适当的筛选/选择步骤选定的符合预期标准的抗体选出物(selectant)可使用标准重组技术进行分离和克隆。

[0923] 更为重要的是,抗体在人源化后保持对抗原的高结合亲和力及其它有利的生物学特性。为了实现这一目的,依照一种优选的方法,通过使用亲本和人源化序列的三维模型分析亲本序列和各种概念性人源化产物的方法来制备人源化抗体。三维免疫球蛋白模型通常是可获得的,且为本领域熟练技术人员所熟悉。还可获得图解和显示所选择的候选免疫球蛋白序列的可能三维构象结构的计算机程序。检查这些显示图像能够分析残基在候选免疫球蛋白序列行使功能中的可能作用,即分析影响候选免疫球蛋白结合其抗原的能力的残基。这样,可从受体和输入序列中选出FR残基并进行组合,从而获得所需抗体特征,诸如对靶抗原的亲和力提高。通常,高变区残基直接且最实质的涉及对抗原结合的影响。

[0924] 本发明涵盖人源化抗CD79b抗体的各种形式。例如,人源化抗体可以是抗体片段,诸如Fab,任选偶联有一种或多种细胞毒剂以生成免疫偶联物。或者,人源化抗体可以是完整的抗体,诸如完整的IgG1抗体。

[0925] 作为人源化的替代方法,可生成人抗体。例如,现在有可能生成在缺乏内源免疫球蛋白生成的情况下能够在免疫后生成人抗体完整全集的转基因动物(例如小鼠)。例如,已经描述了嵌合和种系突变小鼠中抗体重链连接区(J_H)基因的纯合删除导致对内源抗体生成的完全抑制。将人种系免疫球蛋白基因阵列(array)转移到此类种系突变小鼠中会导致在抗原攻击后生成人抗体。参见例如Jakobovits等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:2551(1993);Jakobovits等,Nature 362:255-258(1993);Bruggemann等,Year in Immuno.7:33(1993);美国专利No.5,545,806,5,569,825,5,591,669(都是GenPharm的);5,545,807;及WO 97/17852。

[0926] 或者,噬菌体展示技术(McCafferty等,Nature 348:552-553(1990))可用于在体外从来自未免疫供体的免疫球蛋白可变(V)域基因全集生成人抗体和抗体片段。依照这种技术,将抗体V结构域基因以符合读码框的方式克隆到丝状噬菌体诸如M13或fd的主要或次要外壳蛋白基因中,并在噬菌体颗粒表面上展示为功能性抗体片段。因为丝状颗粒包含噬菌体基因组的单链DNA拷贝,以抗体的功能特性为基础进行的选择也导致编码展示那些特性的抗体的基因的选择。如此,噬菌体模拟B细胞的一些特性。噬菌体展示可以多种形式进行,综述参见例如Johnson,Kevin S.和Chiswell,David J.,Current Opinion in Structural Biology 3:564-571(1993)。V基因区段的数种来源可用于噬菌体展示。Clackson等,Nature 352:624-628(1991)从衍生自免疫小鼠脾的小型V基因随机组合文库分离得到大量不同的抗[illegible]唑酮抗体。可基本上遵循Marks等,J.Mol.Biol.222:581-597(1991)或Griffith等,EMBO J.12:725-734(1993)所述技术,由未免疫人供体构建V基因全集,并分离针对大量不同抗原(包括自身抗原)的抗体。还可参见美国专利No.5,565,332和5,573,905。

[0927] 如上所述,还可通过体外激活B细胞(参见美国专利No.5,567,610和5,229,275)来生成人抗体。

[0928] 4.抗体片段

[0929] 在某些情况中,使用抗体片段而非完整抗体是有利的。片段的体积较小,容许快速清除,并且可导致对实体瘤的接近和进入提高。

[0930] 已经开发了用于生成抗体片段的多种技术。传统上，通过蛋白水解消化完整抗体来衍生这些片段（参见例如 Morimoto 等，Journal of Biochemical and Biophysical Methods 24:107-117(1992)；及 Brennan 等，Science 229:81(1985)）。然而，现在可直接由重组宿主细胞生成这些片段。Fab、Fv 和 scFv 抗体片段都可在大肠杆菌中表达和由大肠杆菌分泌，如此容许容易地生成大量的这些片段。可从上文讨论的抗体噬菌体文库分离抗体片段。或者，可直接从大肠杆菌回收 Fab'-SH 片段，并通过化学方法偶联以形成 $F(ab')_2$ 片段 (Carter 等，Bio/Technology 10:163-167(1992))。依照另一种方法，可直接从重组宿主细胞培养物分离 $F(ab')_2$ 片段。包含补救受体结合表位残基、具有延长的体内半衰期的 Fab 和 $F(ab')_2$ 片段描述于美国专利 No.5,869,046。用于生成抗体片段的其它技术对熟练从业人员是显而易见的。在其它实施方案中，选择的抗体是单链 Fv 片段 (scFv)。参见 WO 93/16185；美国专利 No.5,571,894；及美国专利 No.5,587,458。Fv 和 sFv 是具有完整结合位点且缺乏恒定区的唯一种类；如此，它们是合适的，因为在体内使用过程中具有降低的非特异性结合。可构建 sFv 融合蛋白以生成效应物蛋白质位于 sFv 氨基或羧基末端的融合物。参见《Antibody Engineering》，Borrebaeck 编，见上文。抗体片段还可以是“线性抗体”，例如如美国专利 No.5,641,870 中所描述的。此类线性抗体片段可以是单特异性的或双特异性的。

[0931] 5. 双特异性抗体

[0932] 双特异性抗体指对至少两种不同表位具有结合特异性的抗体。例示性的双特异性抗体可结合本文所述 CD79b 蛋白质的两种不同表位。其它此类抗体可将 CD79b 结合位点与针对另一种蛋白质的结合位点组合。或者，可以将抗 CD79b 臂与结合白细胞上触发分子诸如 T 细胞受体分子（例如 CD3）或 IgG 的 Fc 受体 (Fc γ R) 诸如 Fc γ RI(CD64)、Fc γ RII(CD32) 和 Fc γ RIII(CD16) 的臂组合，从而将细胞防御机制聚焦和定位于表达 CD79b 的细胞。双特异性抗体还可用于将细胞毒剂定位于表达 CD79b 的细胞。这些抗体拥有 CD79b 结合臂及结合细胞毒剂（例如肥皂草毒蛋白 (saporin)、抗干扰素 -α、长春花生物碱 (vinca alkaloid)、蓖麻毒蛋白 A 链、甲氨蝶呤或放射性同位素半抗原）的臂。可将双特异性抗体制备成全长抗体或抗体片段（例如 $F(ab')_2$ 双特异性抗体）。

[0933] WO 96/16673 描述了双特异性抗 ErbB2/ 抗 Fc γ RIII 抗体，而美国专利 No.5,837,234 公开了双特异性抗 ErbB2/ 抗 Fc γ RI 抗体。双特异性抗 ErbB2/Fc α 抗体显示于 WO 98/02463。美国专利 No.5,821,337 教导了双特异性抗 ErbB2/ 抗 CD3 抗体。

[0934] 用于生成双特异性抗体的方法是本领域已知的。全长双特异性抗体的传统生成基于两种免疫球蛋白重链 - 轻链对的共表达，其中两种链具有不同的特异性 (Millstein 等，Nature 305:537-539(1983))。由于免疫球蛋白重链和轻链的随机分配，这些杂交瘤（四源杂交瘤 (quadroma)）生成 10 种不同抗体分子的潜在混合物，其中只有一种具有正确的双特异性结构。通常通过亲和层析步骤进行的正确分子的纯化相当麻烦，且产物产量低。WO 93/08829 及 Traunecker 等，EMBO J.10:3655-3659(1991) 中公开了类似的流程。

[0935] 依照一种不同的方法，将具有所需结合特异性（抗体 - 抗原结合位点）的抗体可变域与免疫球蛋白恒定域序列融合。优选的是，融合使用包含至少部分铰链、C_H2 和 C_H3 区的免疫球蛋白重链恒定域。优选的是，在至少一种融合物中具有包含轻链结合所必需的位点的第一重链恒定区 (C_H1)。将编码免疫球蛋白重链融合物以及，如果需要，免疫球蛋白轻

链的 DNA 插入分开的表达载体中，并共转染到合适的宿主细胞中。在用于构建的三种多肽链比例不等时提供期望双特异性抗体的最佳产量的实施方案中，这为调整三种多肽片段的相互比例提供了更大的灵活性。然而，在至少两种多肽链以相同比率表达导致高产量时或在该比率对期望链组合的产量没有显著影响时，有可能将两种或所有三种多肽链的编码序列插入同一表达载体。

[0936] 在本方法的一个优选实施方案中，双特异性抗体由一个臂上具有第一结合特异性的杂合免疫球蛋白重链，和另一个臂上的杂合免疫球蛋白重链 - 轻链对（提供第二结合特异性）构成。由于免疫球蛋白轻链仅在半个双特异性分子中的存在提供了分离的便利途径，因此发现这种不对称结构便于将所需双特异性化合物与不想要的免疫球蛋白链组合分开。该方法公开于 WO 94/04690。关于生成双特异性抗体的其它细节参见例如 Suresh 等，Methods in Enzymology 121:210(1986)。

[0937] 依照美国专利 No.5,731,168 中描述的另一种方法，可改造一对抗体分子之间的界面，将从重组细胞培养物中回收的异二聚体的百分比最大化。优选的界面包含至少部分 C_H3 结构域。在该方法中，将第一抗体分子界面的一个或多个小型氨基酸侧链用较大侧链（例如酪氨酸或色氨酸）替换。通过用较小氨基酸侧链（例如丙氨酸或苏氨酸）替换大型氨基酸侧链，在第二抗体分子的界面上产生大小与大型侧链相同或相似的补偿性“空腔”。这提供了较之其它不想要的终产物诸如同二聚体提高异二聚体产量的机制。

[0938] 双特异性抗体包括交联或“异源偶联”抗体。例如，异源偶联物中的一种抗体可与亲合素偶联，另一种抗体与生物素偶联。例如，此类抗体建议用于将免疫系统细胞靶向不想要的细胞（美国专利 No.4,676,980），及用于治疗 HIV 感染 (WO 91/00360、WO 92/200373 及 EP 03089)。可使用任何便利的交联方法制备异源偶联抗体。合适的交联剂是本领域众所周知的，并且连同许多交联技术一起公开于美国专利 No.4,676,980。

[0939] 文献中还描述了由抗体片段生成双特异性抗体的技术。例如，可使用化学连接来制备双特异性抗体。Brennan 等，Science 229:81(1985) 描述了一种规程，其中通过蛋白水解切割完整抗体以生成 $F(ab')_2$ 片段。将这些片段在存在二硫醇络合剂亚砷酸钠的情况下还原，以稳定邻近的二硫醇并防止分子间二硫键的形成。然后将产生的 Fab' 片段转变为硫代硝基苯甲酸酯 (TNB) 衍生物。然后将 Fab'-TNB 衍生物之一通过巯基乙胺的还原重新恢复成 Fab' - 硫醇，并与等摩尔量的另一种 Fab'-TNB 衍生物混合，以形成双特异性抗体。产生的双特异性抗体可用作酶的选择性固定化试剂。

[0940] 最近的进展使得从大肠杆菌中直接回收 Fab'-SH 片段变得更加容易，这些片段可化学偶联以形成双特异性抗体。Shalaby 等，J.Exp.Med.175:217-225(1992) 描述了完全人源化的双特异性抗体 $F(ab')_2$ 分子的生成。每个 Fab' 片段由大肠杆菌分开分泌，并在体外进行定向化学偶联以形成双特异性抗体。如此形成的双特异性抗体能够结合过表达 ErbB2 受体的细胞和正常人 T 细胞，以及触发人细胞毒性淋巴细胞针对人乳房肿瘤靶的溶解活性。

[0941] 还描述了从重组细胞培养物直接制备和分离双特异性抗体片段的多种技术。例如，已使用亮氨酸拉链生成双特异性抗体。Kostelny 等，J.Immunol.148(5):1547-1553(1992)。将来自 Fos 和 Jun 蛋白的亮氨酸拉链肽通过基因融合与两种不同抗体的 Fab' 部分连接。抗体同二聚体在铰链区还原而形成单体，然后重新氧化

而形成抗体异二聚体。这种方法也可用于生成抗体同二聚体。由Hollinger等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:6444-6448(1993)描述的“双抗体(diabody)”技术提供了制备双特异性抗体片段的替代机制。该片段包含通过接头相连的V_H和V_L,所述接头太短使得同一条链上的两个结构域之间不能配对。因而,迫使一个片段上的V_H和V_L结构域与另一个片段上的互补V_L和V_H结构域配对,由此形成两个抗原结合位点。还报道了通过使用单链Fv(scFv)二聚体制备双特异性抗体片段的另一种策略。参见Gruber等,J.Immunol.152:5368(1994)。

[0942] 涵盖具有超过两个效价的抗体。例如,可制备三特异性抗体。Tutt等,J.Immunol.147:60(1991)。

[0943] 6.异源偶联抗体

[0944] 异源偶联抗体也在本发明的范围之内。异源偶联抗体由两种共价连接的抗体构成。此类抗体建议例如用于将免疫系统细胞靶向不想要的细胞(美国专利No.4,676,980)及用于治疗HIV感染(WO 91/00360;WO 92/200373;EP 03089)。可在体外使用合成蛋白质化学的已知方法制备抗体,包括那些涉及交联剂的方法。例如,可使用二硫化物交换反应或通过形成硫醚键来构建免疫毒素。适于此目的的试剂的例子包括亚氨基硫醇酯/盐(iminothiolate)和4-巯基丁亚氨酸甲酯(methyl-4-mercaptobutyrimidate)及例如美国专利No.4,676,980中所公开的。

[0945] 7.多价抗体

[0946] 多价抗体可以比二价抗体更快地受到表达该抗体所结合抗原的细胞的内化(和/或异化)。本发明的抗体可以是具有三个或更多抗原结合位点(例如四价抗体)的多价抗体(不同于IgM类),其可容易地通过编码抗体多肽链的核酸的重组表达来生成。多价抗体可包含二聚化结构域和三个或更多抗原结合位点。优选的二聚化结构域包含(或由其组成)Fc区或铰链区。在这种情况中,抗体可包含Fc区及Fc区氨基末端的三个或更多抗原结合位点。本文中优选的多价抗体包含(或由其组成)三个至约八个,但优选四个抗原结合位点。多价抗体包含至少一条多肽链(且优选两条多肽链),其中所述多肽链包含两个或多个可变域。例如,多肽链可包含VD1-(X1)n-VD2-(X2)n-Fc,其中VD1是第一可变域,VD2是第二可变域,Fc是Fc区的一条多肽链,X1和X2代表氨基酸或多肽,而n是0或1。例如,多肽链可包含:VH-CH1-柔性接头-VH-CH1-Fc区链;或VH-CH1-VH-CH1-Fc区链。本文中的多价抗体优选进一步包含至少两条(且优选四条)轻链可变域多肽。本文中的多价抗体可包含例如约两条至约八条轻链可变域多肽。本文涵盖的轻链可变域多肽包含轻链可变域,且任选进一步包含CL结构域。

[0947] 8.效应器功能的工程改造

[0948] 可能希望在效应器功能方面修饰本发明的抗体,例如为了增强抗体的抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)和/或补体依赖性细胞毒性(CDC)。这可通过在抗体Fc区中引入一个或多个氨基酸替代来实现。或者/另外,可在Fc区中引入半胱氨酸残基,从而容许在该区中形成链间二硫键。如此生成的同二聚体抗体可具有改善的内化能力和/或提高的补体介导的细胞杀伤和抗体依赖性细胞毒性(ADCC)。参见Caron等,J.Exp.Med.176:1191-1195(1992)及Shopes,B.,J.Immunol.148:2918-2922(1992)。具有增强的抗肿瘤活性的同二聚体抗体还可使用如Wolff等,Cancer Research 53:2560-2565(1993)中描述的异双功能交联剂来制备。或者,抗体可改造成具有双重Fc区,由此可具有增强的

补体溶解和 ADCC 能力。参见 Stevenson 等，Anti-Cancer 药物 Design 3:219-230(1989)。为了提高抗体的血清半衰期，可如例如美国专利 No.5,739,277 中所述将补救受体结合表位掺入抗体（尤其是抗体片段）中。在用于本文时，术语“补救 (salvage) 受体结合表位”指 IgG 分子（例如 IgG_1、IgG_2、IgG_3 或 IgG_4)Fc 区中负责提高 IgG 分子体内血清半衰期的表位。

[0949] 9. 免疫偶联物

[0950] 本发明还关于包含偶联有细胞毒剂的抗体的免疫偶联物（可互换地称作“抗体 - 药物偶联物”或“ADC”），所述细胞毒剂诸如化疗剂、生长抑制剂、毒素（例如细菌、真菌、植物或动物起源的酶活性毒素或其片段）或放射性同位素（即放射偶联物）。

[0951] 在某些实施方案中，免疫偶联物包含抗体和化疗剂或其它毒素。上文已经描述了可用于生成此类免疫偶联物的化疗剂。可使用的酶活性毒素及其片段包括白喉毒素 A 链、白喉毒素的非结合活性片段、外毒素 A 链（来自铜绿假单胞菌）、蓖麻毒蛋白 A 链、相思豆毒蛋白 A 链、蒴莲根毒蛋白 A 链、α - 帚曲霉素、油桐 (Aleurites fordii) 蛋白、香石竹蛋白 (dianthin proteins)、美洲商陆 (Phytolaca americana) 蛋白 (PAPI、PAPII 和 PAP-S)、苦瓜 (momordica charantia) 抑制剂、麻疯树毒蛋白、巴豆毒蛋白、肥皂草 (sapaonaria officinalis) 抑制剂、白树毒蛋白、丝林霉素 (mitogellin)、局限曲菌素、酚霉素、依诺霉素和单端孢菌素。多种放射性核素可用于生成放射偶联抗体。实例包括 ^{212}Bi、^{131}I、^{131}In、^{90}Y 和 ^{186}Re。抗体和细胞毒剂的偶联物可使用多种双功能蛋白质偶联剂来制备，诸如 N- 琥珀酰亚氨基 -3-(2- 吡啶基二硫代）丙酸酯 (SPDP)、亚氨基硫烷 (IT)、亚氨酸酯（诸如盐酸己二酰亚氨酸二甲酯）、活性酯类（诸如辛二酸二琥珀酰亚氨基酯）、醛类（诸如戊二醛）、双叠氮化合物（诸如双（对 - 叠氮苯甲酰基）己二胺）、双重氮衍生物（诸如双（对 - 重氮苯甲酰基）乙二胺）、二异氰酸酯（诸如甲苯 2,6- 二异氰酸酯）和双活性氟化合物（诸如 1,5- 二氟 -2,4- 二硝基苯）的双功能衍生物。例如，可如 Vitetta 等，Science 238:1098(1987) 中所述制备蓖麻毒蛋白免疫毒素。碳 -14 标记的 1- 异硫氰酸苯甲基 -3- 甲基二亚乙基三胺五乙酸 (MX-DTPA) 是用于将放射性核苷酸与抗体偶联的示例性的螯合剂。参见 WO 94/11026。

[0952] 本文还设想了抗体与一种或多种小分子毒素（如加利车霉素、auristatin 肽诸如 monomethylauristatin(MMAE)（多拉司他汀的合成类似物）、美登木素生物碱类诸如 DM1、单端孢霉素和 CC1065，及这些毒素具有毒素活性的衍生物）的偶联物。

[0953] 例示性的免疫偶联物—抗体 - 药物偶联物

[0954] 本发明的免疫偶联物（或“抗体 - 药物偶联物”（“ADC”））可以是下文通式 I，其中抗体经任选的接头 (L) 与一个或多个药物模块 (D) 偶联（即共价附着）。ADC 可以包括 thioMAb 药物偶联物（“TDC”）。

[0955] $Ab-(L-D)_p$ 式 I

[0956] 因而，抗体可直接地或经接头地偶联至药物。在通式 I 中，p 是每个抗体的平均药物模块数，其范围可以是例如每个抗体约 1 个到约 20 个药物模块，在某些实施方案中是每个抗体 1 个到约 8 个药物模块。本发明包括包含式 I 抗体 - 药物偶联物的混合物的组合物，其中每个抗体的平均药物载荷是约 2 个至约 5 个或约 3 个至约 4 个。

[0957] a. 例示性的接头

[0958] 接头可以包含一种或多种接头构件。例示性的接头构件包括 6- 马来酰亚氨基己

酰基（“MC”）、马来酰亚氨基丙酰基（“MP”）、缬氨酸－瓜氨酸（“val-cit”或“vc”）、丙氨酸－苯丙氨酸（“ala-phe”）、对氨基苄氧羰基（“PAB”）、及那样源自与接头试剂的偶联的：N-琥珀酰亚氨基 4-(2-吡啶基硫代）戊酸酯（“SPP”）、N-琥珀酰亚氨基 4-(N-马来酰亚氨基甲基）环己烷 -1 羧酸酯（“SMCC”，在本文中也称作“MCC”）和 N-琥珀酰亚氨基 (4-碘－乙酰基）氨基苯甲酸酯（“SIAB”）。本领域知道多种接头构件，下文也描述了一些。

[0959] 接头可以是便于在细胞中释放药物的“可切割接头”。例如，可使用酸不稳定接头（例如腙）、蛋白酶敏感（例如肽酶敏感）接头、光不稳定接头、二甲基接头或含二硫化物接头 (Chari 等，Cancer Research 52:127-131(1992)；美国专利 No.5,208,020)。

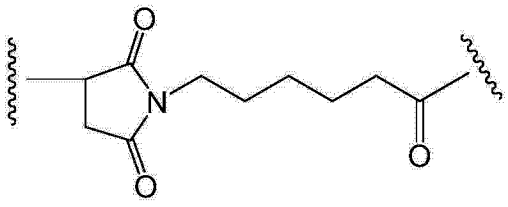
[0960] 在某些实施方案中，接头是如下面式 II 所示的：

[0961] $-A_a-W_w-Y_y-$ II

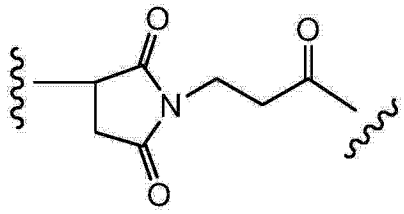
[0962] 其中 A 是延伸物 (stretcher) 单元，而 a 是 0 到 1 的整数；W 是氨基酸单元，而 w 是 0 到 12 的整数；Y 是间隔物单元，而 y 是 0、1 或 2；且 Ab、D 和 p 如上文通式 I 的定义。此类接头的例示性实施方案记载于 US 2005-0238649 A1，明确收入本文作为参考。

[0963] 在有些实施方案中，接头构件可以包含将抗体连接至另一接头构件或药物模块的“延伸物单元”。例示性的延伸物单元显示于下文（其中波形线指示共价附着至抗体的位点）：

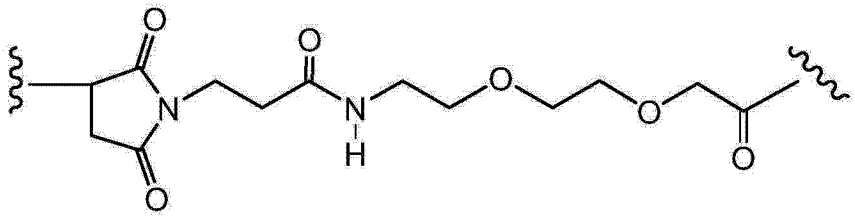
[0964]



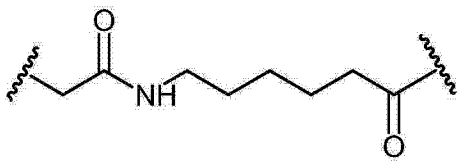
MC



MP



MPEG



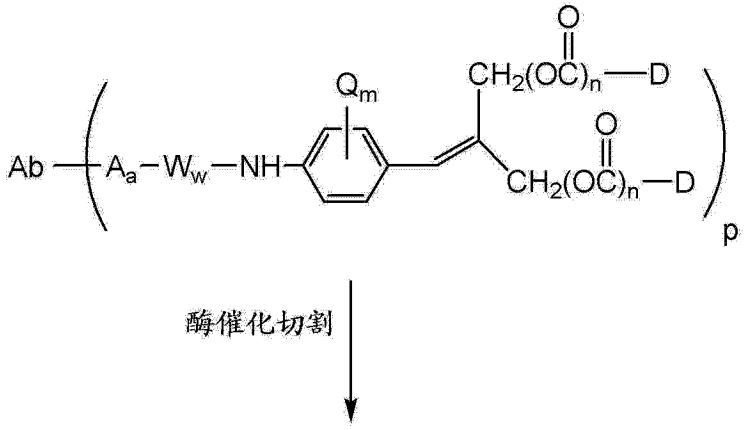
[0965] 在有些实施方案中，接头构件可以包含氨基酸单元。在一个这样的实施方案中，氨基酸单元容许蛋白酶切割接头，由此便于在暴露于胞内蛋白酶（诸如溶酶体酶）后从免疫偶联物释放药物。参见例如 Doronina 等 (2003)Nat.Biotechnol.21:778-784。例示性的氨基酸单元包括但不限于二肽、三肽、四肽和五肽。例示性的二肽包括：缬氨酸 - 瓜氨酸 (vc 或 val-cit)；丙氨酸 - 苯丙氨酸 (af 或 ala-phe)；苯丙氨酸 - 赖氨酸 (fk 或 phe-lys)；或 N- 甲基 - 缬氨酸 - 瓜氨酸 (Me-val-cit)。例示性的三肽包括：甘氨酸 - 缬氨酸 - 瓜氨酸 (gly-val-cit) 和甘氨酸 - 甘氨酸 - 甘氨酸 (gly-gly-gly)。氨基酸单元可以包含天然存在的氨基酸残基，以及次要氨基酸 (minor amino acid) 和非天然存在氨基酸类似物，诸如瓜氨酸。氨基酸单元可以在它们对特定酶（例如肿瘤相关蛋白酶，组织蛋白酶 B、C 和 D，或血浆蛋白酶）的酶促切割的选择性方面进行设计和优化。

[0966] 在有些实施方案中，接头构件可以包含将抗体连接（或是直接的或是通过延伸物单元和 / 或氨基酸单元）至药物模块的“间隔物”单元。间隔物单元可以是“自我牺牲的”(self-immolative) 或“非自我牺牲的”。“非自我牺牲的”间隔物单元指间隔物单元的部分或整体在 ADC 的酶促（蛋白水解）切割后保持结合于药物模块的间隔物单元。非自我牺牲的间隔物单元的例子包括但不限于甘氨酸间隔物单元和甘氨酸 - 甘氨酸间隔物单元。还涵盖对序列特异性酶促切割敏感的肽间隔物的其它组合。例如，肿瘤细胞相关蛋白酶对含甘氨酸 - 甘氨酸间隔物单元的 ADC 的酶促切割将导致甘氨酸 - 甘氨酸 - 药物模块从 ADC 的剩余部分释放。在一个这样的实施方案中，甘氨酸 - 甘氨酸 - 药物模块然后在肿瘤细胞中进行分开的水解步骤，如此从药物模块切割甘氨酸 - 甘氨酸间隔物单元。

[0967] “自我牺牲的”间隔物单元容许释放药物模块而没有分开的水解步骤。在某些实施方案中，接头的间隔物单元包含对氨基苄基单元。在一个这样的实施方案中，将对氨基苯甲醇经酰胺键附着至氨基酸单元，并且在苯甲醇与细胞毒剂之间生成氨基甲酸酯、甲基氨基甲酸酯或碳酸酯。参见例如 Hamann 等 (2005)Expert Opin.Ther.Patents(2005)15:1087-1103。在一个实施方案中，间隔物单元是对氨基苄氧羰基 (PAB)。在某些实施方案中，对氨基苄基单元的亚苯基部分是用 Qm 取代的，其中 Q 是 $-C_1-C_8$ 烃基、-O-(C_1-C_8 烃基)、- 卤素、- 硝基或 - 氰基；而 m 是范围为 0-4 的整数。自我牺牲的间隔物单元的例子进一步包括但不限于在电子上与对氨基苯甲醇相似的芳香族化合物（参见例如 US 2005/0256030 A1)，诸如 2- 氨基咪唑 -5- 甲醇衍生物 (Hay 等 (1999)Bioorg.Med.Chem.Lett.9:2237) 和邻位或对位氨基苄基乙缩醛。可以使用在酰胺键水解后发生环化的间隔物，诸如取代的和未取代的 4- 氨基丁酸酰胺 (Rodrigues 等，Chemistry Biology,1995,2,223)；适当取代的双环 [2.2.1] 和双环 [2.2.2] 环体系 (Storm, 等，J.Amer.Chem.Soc.,1972,94,5815)；及 2- 氨基苯基丙酸酰胺 (Amsberry 等，J.Org.Chem.,1990,55,5867)。消除在甘氨酸 a 位取代的含胺药物 (Kingsbury 等，J.Med.Chem.,1984,27,1447) 也是可用于 ADC 的自我牺牲的间隔物的例子。

[0968] 在一个实施方案中，间隔物单元是下文所示分支的双（羟甲基）苯乙烯 (BHMS) 单元，其可用于掺入和释放多个药物。

[0969]

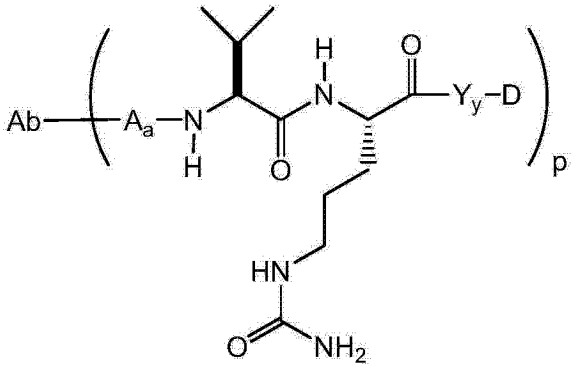


[0970] 其中 Q 是 $-C_1-C_8$ 烃基、$-O-(C_1-C_8$ 烃基)、- 卤素、硝基或氰基 ;m 是范围为 0-4 的整数 ;n 是 0 或 1 ;而 p 的范围是 1 到约 20。

[0971] 在另一个实施方案中,接头 L 可以为树枝状类型接头,其用于通过支化多官能接头模块与抗体共价结合一个以上药物模块 (Sun 等 (2002)Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters 12:2213-2215 ;Sun 等 (2003)Bioorganic&Medicinal Chemistry 11:1761-1768)。树枝状接头可以增加药物与抗体的摩尔比,即载荷,它与 ADC 的效能相关。因此,如果半胱氨酸改造的抗体仅带有一个反应性半胱氨酸巯基,那么可以通过树枝状接头结合众多药物模块。

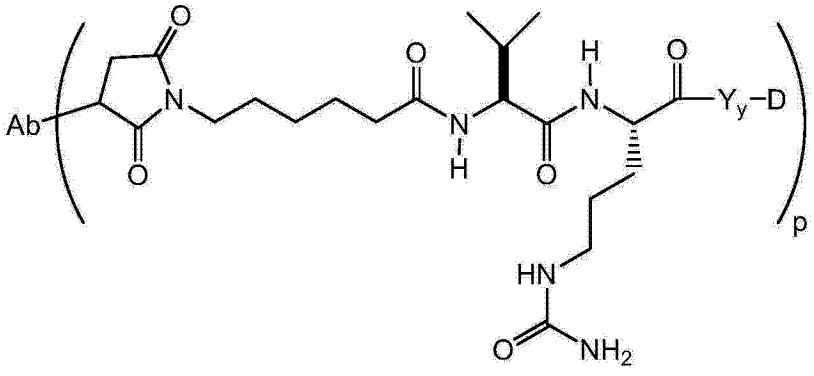
[0972] 显示了下文通式 II 的 ADC 背景中的例示性接头构件及其组合 :

[0973]

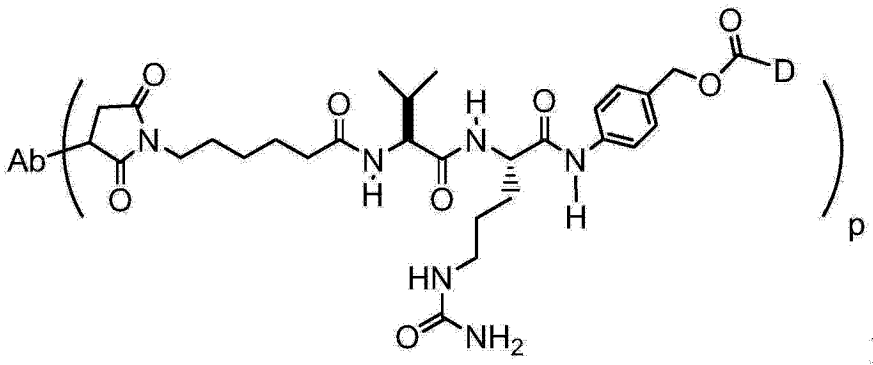


Val-Cit或VC

[0974]



MC-val-cit



MC-val-cit-PAB

[0975] 接头构件，包括延伸物、间隔物和氨基酸单元，可以通过本领域已知方法合成，诸如 US 2005-0238649 A1 中所记载的。

[0976] b. 例示性的药物模块

[0977] (1) 美登素和美登木素生物碱类

[0978] 在有些实施方案中，免疫偶联物包含偶联有一个或多个美登木素生物碱分子的抗体。美登木素生物碱类是通过抑制微管蛋白多聚化来发挥作用的有丝分裂抑制剂。美登素最初从东非灌木齿叶美登木 (Maytenus serrata) 分离得到 (美国专利 3,896,111)。随后发现某些微生物也生成美登木素生物碱类，诸如美登醇和 C-3 美登醇酯 (美国专利 4,151,042)。例如下列美国专利公开了合成美登醇及其衍生物和类似物 :4,137,230 ;4,248,870 ;4,256,746 ;4,260,608 ;4,265,814 ;4,294,757 ;4,307,016 ;4,308,268 ;4,308,269 ;4,309,428 ;4,313,946 ;4,315,929 ;4,317,821 ;4,322,348 ;4,331,598 ;4,361,650 ;4,364,866 ;4,424,219 ;4,450,254 ;4,362,663 ;及 4,371,533。

[0979] 美登木素生物碱类药物模块在抗体药物偶联物中是有吸引力的药物模块，因为它们 :(i) 相对易于通过发酵或发酵产物的化学修饰或衍生化来制备 ;(ii) 易于用适于通过二硫化物和非二硫化物接头的偶联的官能基衍生化 ;(iii) 在血浆中稳定 ;且 (iv) 有效针对多种肿瘤细胞系。

[0980] 适于用作美登木素生物碱类药物模块的美登素化合物是本领域公知的，而且可以依照已知方法从天然来源分离，或是使用遗传工程和发酵技术生产 (US 6790952 ;US 2005/0170475 ;Yu et al(2002)PNAS 99:7968-7973)。美登醇和美登醇类似物也可以依照已知方法合成制备。

[0981] 例示性的美登木素生物碱类药物模块包括那些具有修饰的芳香环的，诸如 : C-19- 脱氯 (美国专利 No.4256746)(通过安丝菌素 (ansamytocin)P2 的氢化铝锂还原来

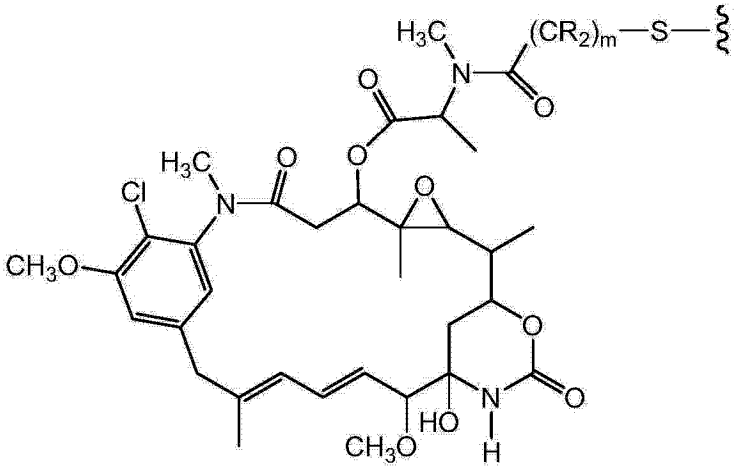
制备）；C-20- 羟基（或 C-20- 脱甲基）+/-C-19- 脱氯（美国专利 No. 4361650 和 4307016）（通过使用链霉菌或放线菌的脱甲基化或使用 LAH 的脱氯化来制备）；及 C-20- 脱甲氧基，C-20- 酰氧基 (-OCOR)，+/- 脱氯（美国专利 No. 4,294,757）（通过使用酰氯的酰化来制备），以及在其它位置具有修饰的。

[0982] 例示性的美登木素生物碱类药物模块还包括那些具有修饰的，诸如：C-9-SH（美国专利 No. 4424219）（通过美登醇与 H_2S 或 P_2S_5 的反应来制备）；C-14- 烷氧基甲基（脱甲氧基 /CH_2OR）(US 4331598)；C-14- 羟甲基或酰氧甲基 (CH_2OH 或 CH_2OAc)（美国专利 No. 4450254）（自诺卡氏菌制备）；C-15- 羟基 / 酰氧基 (US 4364866)（通过链霉菌对美登醇的转化来制备）；C-15- 甲氧基（美国专利 No. 4313946 和 4315929）（自 Trewia nudlflora 分离）；C-18-N- 脱甲基（美国专利 No. 4362663 和 4322348）（通过链霉菌对美登醇的脱甲基化来制备）；及 4,5- 脱氧 (US 4371533)（通过美登醇的三氯化钛 /LAH 还原来制备）。

[0983] 已知美登素化合物上的许多位置作为连接位置是有用的，这取决于连接的类型。例如，为了形成酯键，具有羟基的 C-3 位、用羟甲基修饰的 C-14 位、用羟基修饰的 C-15 位和具有羟基的 C-20 位均是合适的 (US 5208020；US RE39151；US 6913748；US 7368565；US 2006/0167245；US 2007/0037972)。

[0984] 美登木素生物碱药物模块包括那些具有如下结构的：

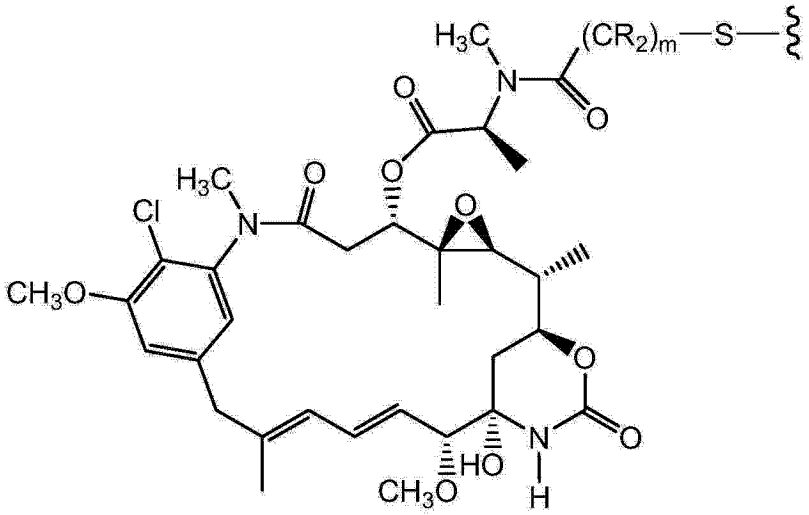
[0985]



[0986] 其中波状线表示美登木素生物碱药物模块的硫原子附着至 ADC 的接头。R 可以独立为 H 或 C_1-C_6 烃基。使酰胺基附着至硫原子的亚烃基链可以为甲基 (methanyl)、乙基 (ethanyl) 或丙基，即 m 为 1、2 或 3(US 633410；US 5208020；US 7276497；Chari et al(1992)Cancer Res. 52:127-131；Liu et al(1996)Proc. Natl. Acad. Sci USA 93:8618-8623)。

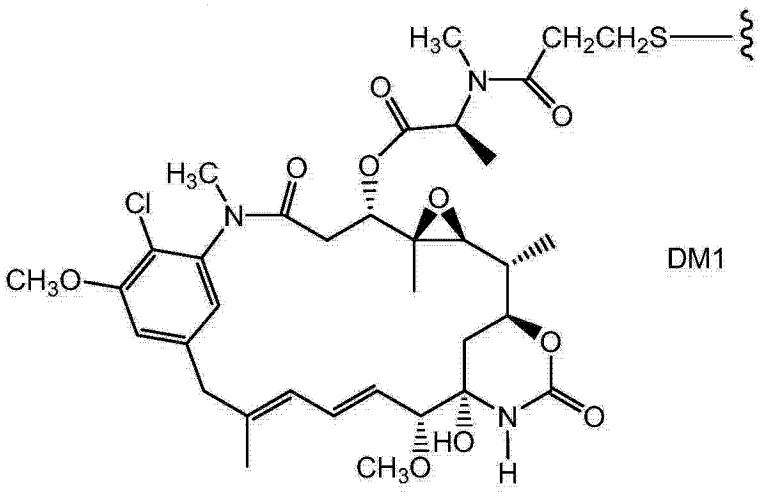
[0987] 本发明的化合物涵盖美登木素生物碱药物模块的所有立体异构体，即 D 的手性碳处的 R 和 S 构型的任何组合。在一个实施方案中，美登木素生物碱药物模块会具有如下的立体化学：

[0988]



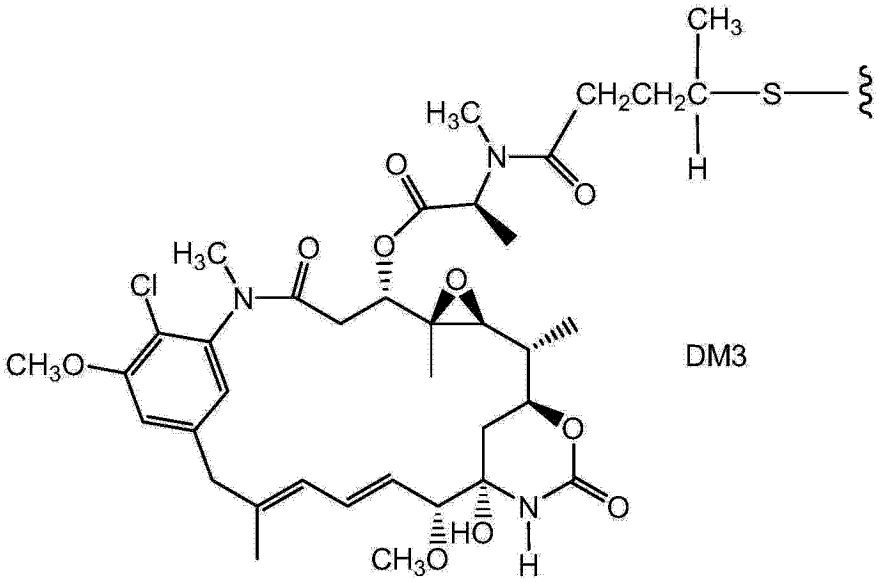
[0989] 美登木素生物碱类药物模块的例示性实施方案包括具有如下结构的 DM1、DM3 和 DM4：

[0990]

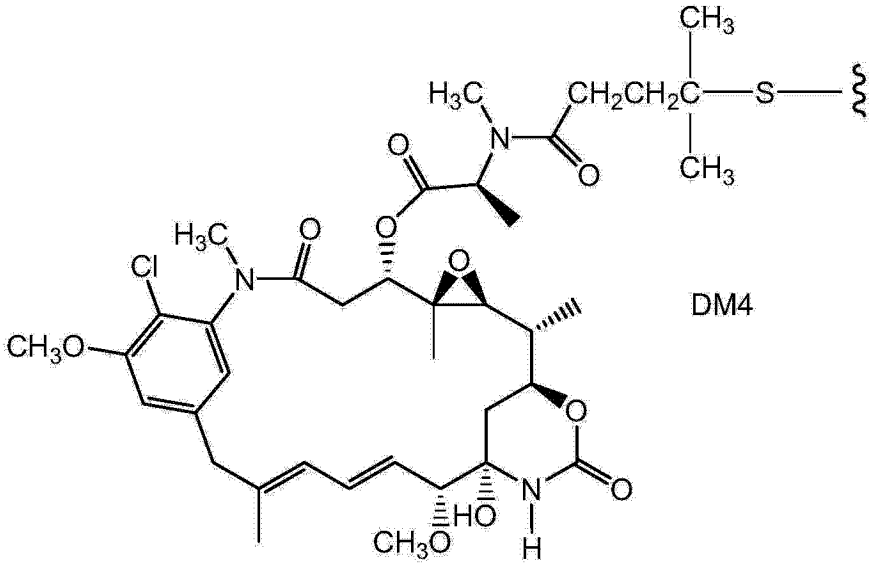


DM1

[0991]



DM3

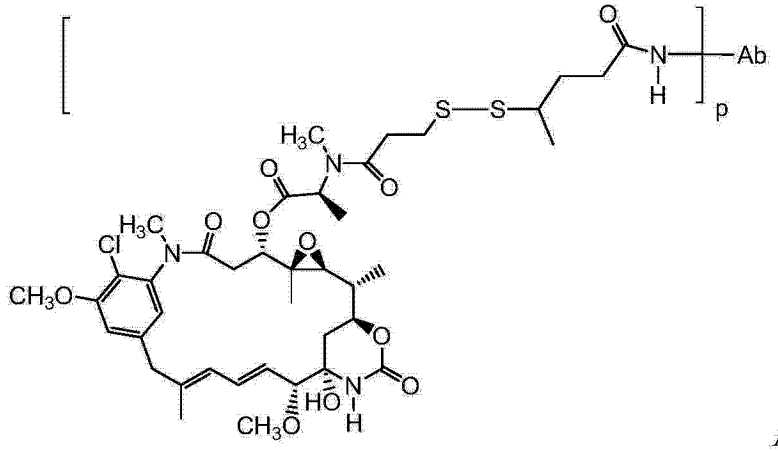


DM4

[0992] 其中波形线指示药物的硫原子对抗体-药物偶联物的接头(L)的共价附着(WO 2005/037992;US 2005/0276812 A1)。

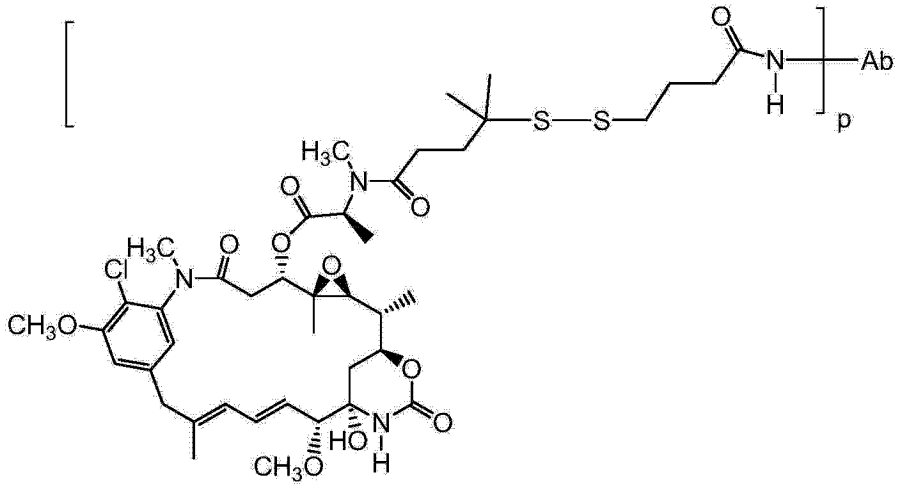
[0993] 其它例示性的美登木素生物碱类抗体-药物偶联物具有如下结构和缩写(其中Ab是抗体,而p是1到约8):

[0994]

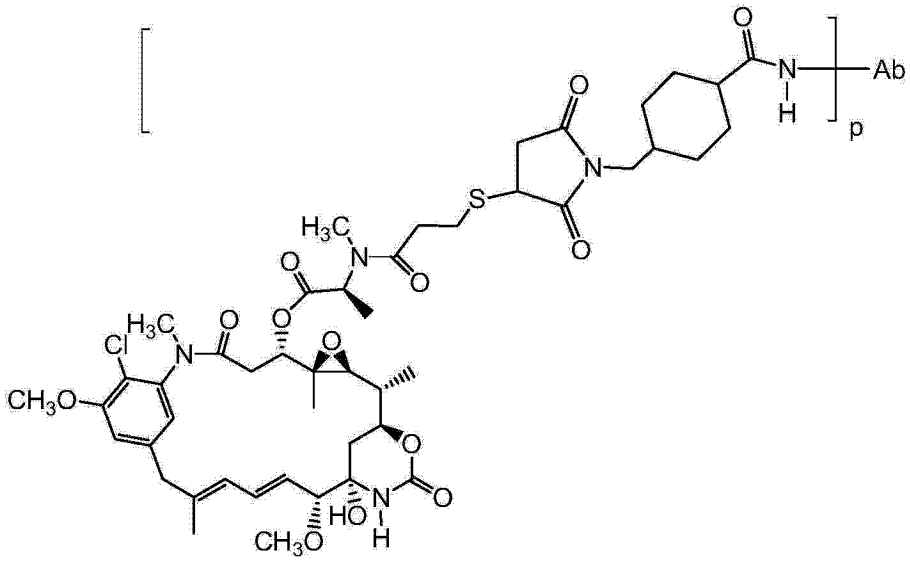


Ab-SPP-DM1

[0995]



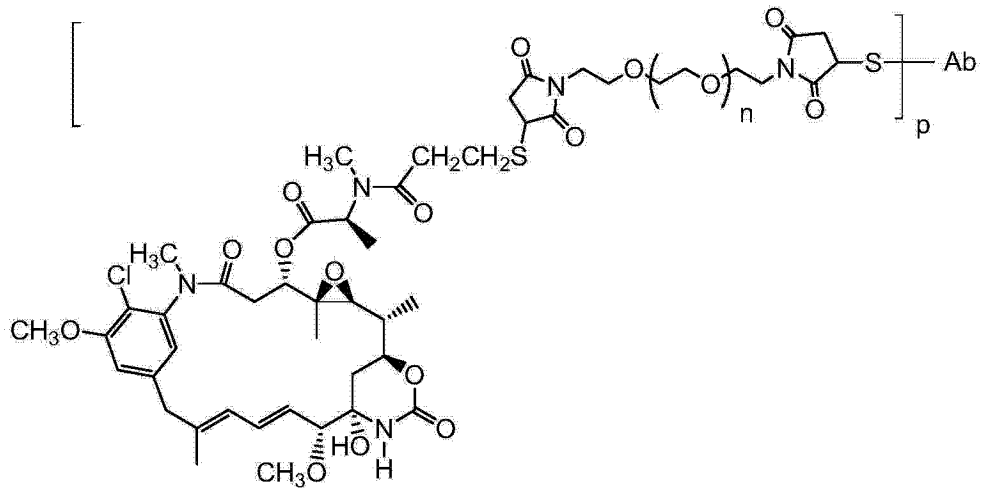
Ab-SPDB-DM4



Ab-SMCC-DM1

[0996] 其中 DM1 经 BMPEO 接头连接抗体硫醇基的例示性抗体 - 药物偶联物具有如下结构和缩写：

[0997]



[0998] 其中 Ab 是抗体；n 是 0、1 或 2；而 p 是 1、2、3 或 4。

[0999] 例如下列专利公开了包含美登木素生物碱类的免疫偶联物及其制备方法和治疗用途：Erickson, et al (2006) Cancer Res. 66(8):4426-4433；美国专利 5,208,020；5,416,064；US 2005/0276812 A1；及欧洲专利 EP 0 425 235 B1，明确将其公开内容收入本文作为参考。

[1000] 抗体-美登木素生物碱偶联物通过将抗体与美登木素生物碱分子化学连接且不显著削弱抗体或美登木素生物碱分子的生物学活性来制备。参见例如美国专利 No. 5,208,020，明确将其公开内容收入本文作为参考。美登木素生物碱类可通过已知技术合成或从天然来源分离。例如美国专利 5,208,020 和上文提及的其它专利及非专利发表物中公开了合适的美登木素生物碱类，诸如美登醇和美登醇分子的芳香环或其它位置经过修饰的美登醇类似物，诸如各种美登醇酯。

[1001] 本领域知道许多接头团可用于制备抗体-美登木素生物碱偶联物，包括例如美国专利 5,208,020 或欧洲专利 0 425 235 B1；Chari et al., Cancer Research 52:127-131 (1992)；及 US 2005/016993 A1 中所公开的，明确将其公开内容收入本文作为参考。包含接头构件 SMCC 的抗体-美登木素生物碱类偶联物可以如 US 2005/0276812 A1，“Antibody-drug conjugates and Methods”中所披露的来制备。接头包含二硫化物基团、硫醚基团、酸不稳定基团、光不稳定基团、肽酶不稳定基团或酯酶不稳定基团，正如上文所述专利中所公开的。本文中描述和例示了别的接头。

[1002] 可使用多种双功能蛋白质偶联剂来制备抗体和美登木素生物碱的偶联物，诸如 N-琥珀酰亚氨基-3-(2-吡啶基二硫代）丙酸酯 (SPDP)、琥珀酰亚氨基-4-(N-马来酰亚氨基甲基）环己烷-1-羧酸酯 (SMCC)、亚氨基硫烷 (IT)、亚氨酸酯（诸如盐酸己二酰亚氨酸二甲酯）、活性酯类（诸如辛二酸二琥珀酰亚氨基酯）、醛类（诸如戊二醛）、双叠氮化合物（诸如双（对-叠氮苯甲酰基）己二胺）、双重氮衍生物（诸如双（对-重氮苯甲酰基）-乙二胺）、二异氰酸酯（诸如甲苯 2,6-二异氰酸酯）和双活性氟化合物（诸如 1,5-二氟-2,4-二硝基苯）的双功能衍生物。在某些实施方案中，偶联剂是 N-琥珀酰亚氨基-3-(2-吡啶基二硫代）丙酸酯 (SPDP) (Carlsson et al., Biochem. J. 173:723-737 (1978)) 或 N-琥珀酰亚氨基-4-(2-吡啶基硫代）戊酸酯 (SPP)，由此提供二硫键连接。

[1003] 根据连接的类型，可将接头附着于美登木素生物碱分子的多个位置。例如，可使用

常规偶联技术通过与羟基的反应来形成酯键。反应可发生在具有羟基的 C-3 位置、经羟甲基修饰的 C-14 位置、经羟基修饰的 C-15 位置和具有羟基的 C-20 位置。在一个实施方案中，在美登醇或美登醇类似物的 C-3 位置形成键连接。

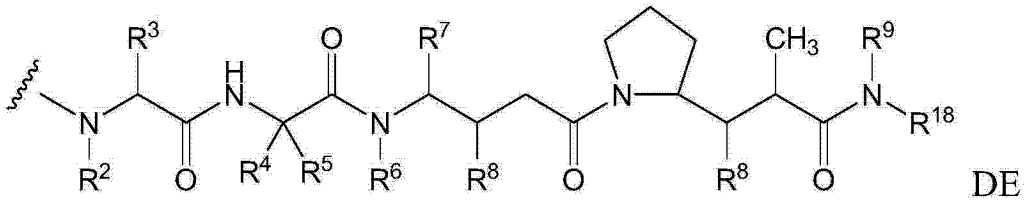
[1004] (2)Auristatin 和多拉司他汀

[1005] 在有些实施方案中，免疫偶联物包含与多拉司他汀 (dolastatin) 或多拉司他汀肽类似物或衍生物 (例如 auristatin)(美国专利 No.5,635,483 ;5,780,588) 偶联的抗体。多拉司他汀类和 auristatin 类已经显示出干扰微管动力学、GTP 水解、及核和细胞分裂 (Woyke et al(2001)Antimicrob.Agents and Chemother.45(12):3580-3584) 且具有抗癌 (美国专利 No.5663149) 和抗真菌活性 (Pettit et al(1998)Antimicrob.Agents Chemother.42:2961-2965)。多拉司他汀或 auristatin 药物模块可经由肽药物模块的 N(氨基) 末端或 C(羧基) 末端附着于抗体 (WO 02/088172)。

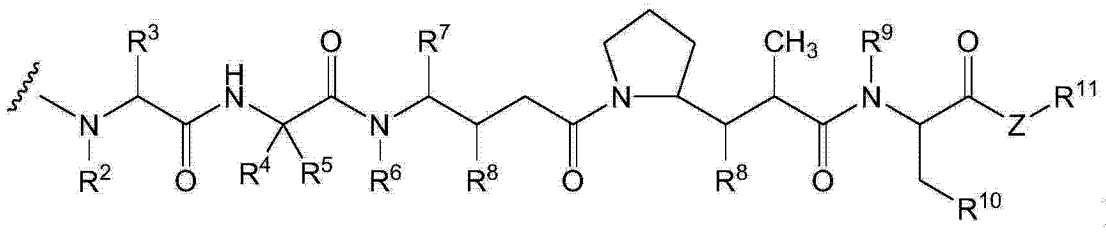
[1006] 例示性的 auristatin 实施方案包括 N- 末端连接的单甲基 auristatin 药物模块 DE 和 DF(US 2005/0238649, 披露于 Senter et al,Proceedings of the American Association for Cancer Research,Volume 45,Abstract Number 623,presented March 28,2004，明确将其公开内容完整收入本文作为参考)。

[1007] 肽药物模块可以选自下文通式 D_E 和 D_F ：

[1008]



DE



DF

[1009] 其中 D_E 和 D_F 的波形线指示抗体或抗体 - 接头构件的共价附着位点，且每个位置是独立的

[1010] R^2 选自 H 和 C_1-C_8 烷基 ；

[1011] R^3 选自 H、C_1-C_8 烷基、C_3-C_8 碳环、芳基、C_1-C_8 烷基 - 芳基、C_1-C_8 烷基 -(C_3-C_8 碳环)、C_3-C_8 杂环和 C_1-C_8 烷基 -(C_3-C_8 杂环) ；

[1012] R^4 选自 H、C_1-C_8 烷基、C_3-C_8 碳环、芳基、C_1-C_8 烷基 - 芳基、C_1-C_8 烷基 -(C_3-C_8 碳环)、C_3-C_8 杂环和 C_1-C_8 烷基 -(C_3-C_8 杂环) ；

[1013] R^5 选自 H 和甲基 ；

[1014] 或者 R^4 与 R^5 一起形成碳环且具有通式 -$(CR^aR^b)_n$-，其中 R^a 和 R^b 独立地选自 H、C_1-C_8 烷基和 C_3-C_8 碳环，而 n 选自 2、3、4、5 和 6 ；

[1015] R^6 选自 H 和 C_1-C_8 烷基 ；

[1016] R^7 选自 H、C_1-C_8 烷基、C_3-C_8 碳环、芳基、C_1-C_8 烷基 - 芳基、C_1-C_8 烷基 -(C_3-C_8 碳环)、

C_3-C_8 杂环和 C_1-C_8 烷基 -(C_3-C_8 杂环）；

[1017] 每个 R^8 独立地选自 H、OH、C_1-C_8 烷基、C_3-C_8 碳环和 O-(C_1-C_8 烷基）；

[1018] R^9 选自 H 和 C_1-C_8 烷基；

[1019] R^{10} 选自芳基或 C_3-C_8 杂环；

[1020] Z 为 O、S、NH 或 NR^{12}，其中 R^{12} 为 C_1-C_8 烷基；

[1021] R^{11} 选自 H、C_1-C_{20} 烷基、芳基、C_3-C_8 杂环、-$(R^{13}O)_m$-R^{14} 或 -$(R^{13}O)_m$-$CH(R^{15})_2$；

[1022] m 是范围为 1-1000 的整数；

[1023] R^{13} 为 C_2-C_8 烷基；

[1024] R^{14} 为 H 或 C_1-C_8 烷基；

[1025] R^{15} 每次出现独立为 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；

[1026] R^{16} 每次出现独立为 H、C_1-C_8 烷基或 -$(CH_2)_n$-COOH；

[1027] R^{18} 选自 -$C(R^8)_2$-$C(R^8)_2$- 芳基、-$C(R^8)_2$-$C(R^8)_2$-(C_3-C_8 杂环）和 -$C(R^8)_2$-$C(R^8)_2$-(C_3-C_8 碳环）；且

[1028] n 是范围为 0 到 6 的整数。

[1029] 在一个实施方案中，R^3、R^4 和 R^7 独立为异丙基或仲丁基，而 R^5 为 -H 或甲基。在一个例示性的实施方案中，R^3 和 R^4 各自为异丙基，R^5 为 -H，而 R^7 为仲丁基。

[1030] 在又一个实施方案中，R^2 和 R^6 各自为甲基，而 R^9 为 -H。

[1031] 在又一个实施方案中，R^8 每次出现为 $-OCH_3$。

[1032] 在一个例示性的实施方案中，R^3 和 R^4 各自为异丙基，R^2 和 R^6 各自为甲基，R^5 为 -H，R^7 为仲丁基，R^8 每次出现为 $-OCH_3$，而 R^9 为 -H。

[1033] 在一个实施方案中，Z 为 -O- 或 -NH-。

[1034] 在一个实施方案中，R^{10} 为芳基。

[1035] 在一个例示性的实施方案中，R^{10} 为 - 苯基。

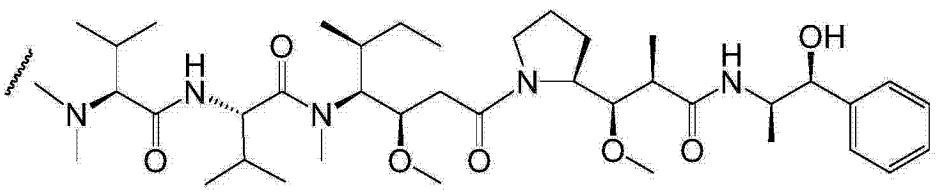
[1036] 在一个例示性的实施方案中，若 Z 为 -O-，则 R^{11} 为 -H、甲基或叔丁基。

[1037] 在一个实施方案中，若 Z 为 -NH，则 R^{11} 为 $-CH(R^{15})_2$，其中 R^{15} 为 -$(CH_2)_n$-$N(R^{16})_2$，而 R^{16} 为 -C_1-C_8 烷基或 -$(CH_2)_n$-COOH。

[1038] 在另一个实施方案中，若 Z 为 -NH，则 R^{11} 为 $-CH(R^{15})_2$，其中 R^{15} 为 -$(CH_2)_n$-SO_3H。

[1039] 通式 D_E 的一种例示性 auristatin 实施方案是 MMAE，其中波形线指示共价附着至抗体 - 药物偶联物的接头 (L)：

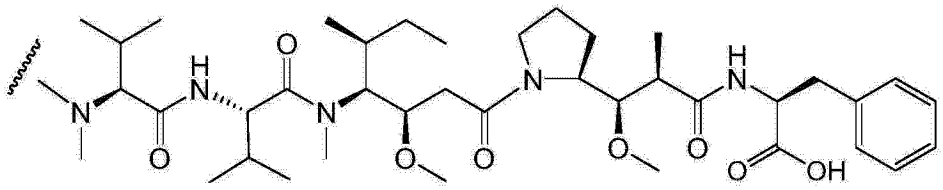
[1040]



MMAE

[1041] 通式 D_F 的一种例示性 auristatin 实施方案是 MMAF，其中波形线指示共价附着至抗体 - 药物偶联物的接头 (L)（参见 US 2005/0238649 及 Doronina et al. (2006) Bioconjugate Chem. 17:114-124）：

[1042]

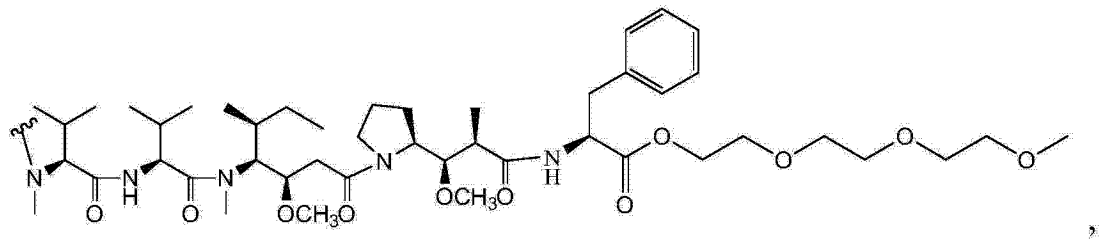


MMAF

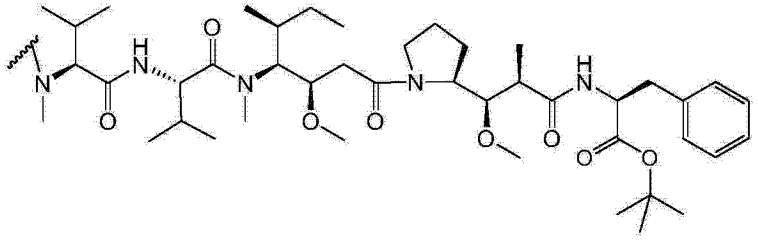
[1043] 其它例示性的实施方案包括在五肽 auristatin 药物模块的 C 末端具有苯丙氨酸羧基修饰的单甲基缬氨酸化合物 (WO 2007/008848) 和在五肽 auristatin 药物模块的 C 末端具有苯丙氨酸侧链修饰的单甲基缬氨酸化合物 (WO 2007/008603)。

[1044] 其它药物模块包括以下 MMAF 衍生物，其中波形线指示共价附着至抗体 - 药物偶联物的接头 (L)：

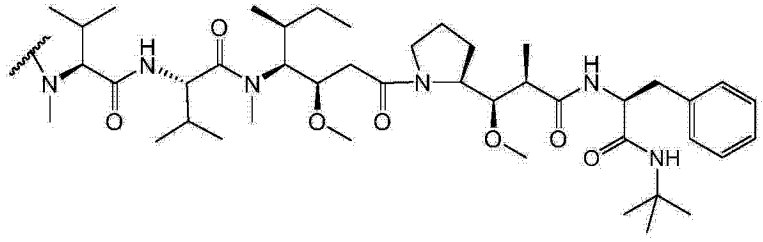
[1045]



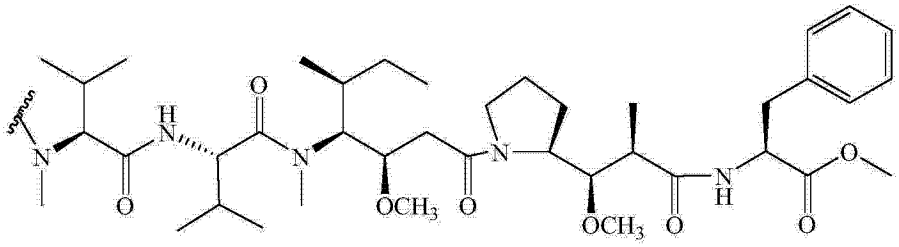
[1046]



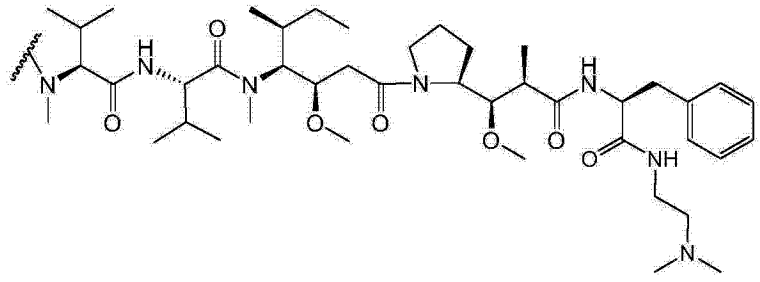
,



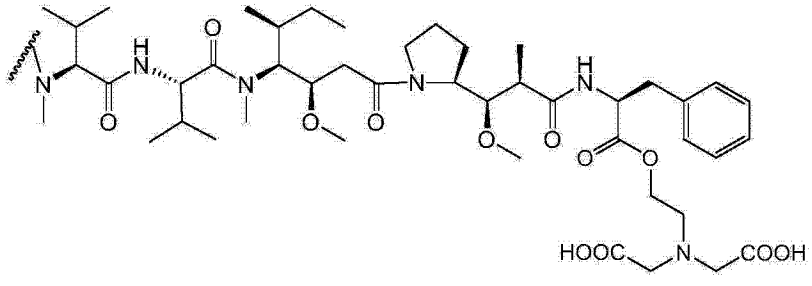
,



,

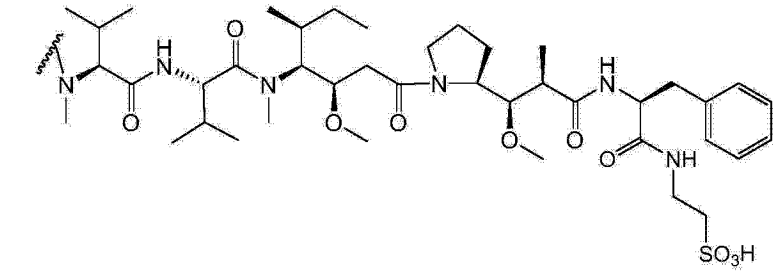


,

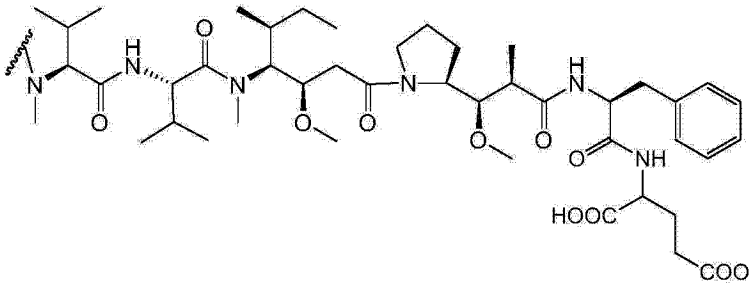


,

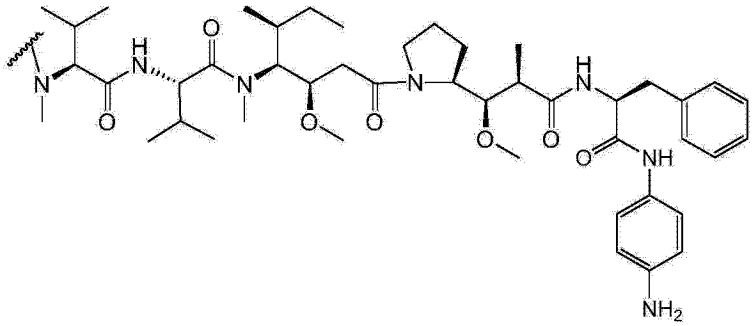
[1047]



，



，和

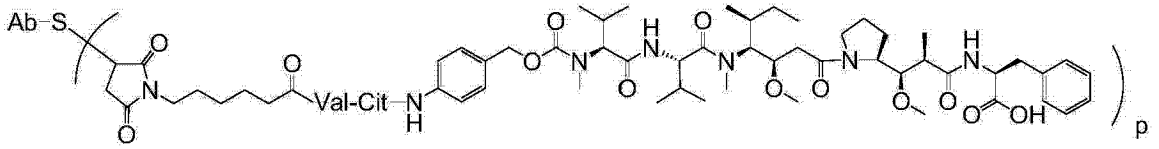


。

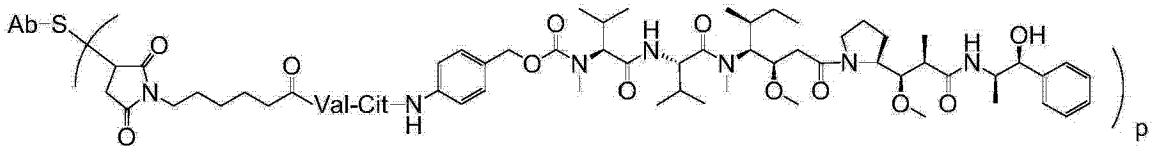
[1048] 一方面，可以将亲水性基团在 R^{11} 处附着于药物模块，所述亲水性基团包括但不限于三乙二醇酯(triethylene glycol ester,TEG)，如上所述。不限于任何特定理论，所述亲水性基团有助于药物模块的内在化和不聚集(non-agglomeration)。

[1049] 包含auristatin/多拉司他汀或其衍生物的通式I ADC的例示性实施方案记载于US 2005-0238649及Doronina et al.(2006)Bioconjugate Chem.17:114-124，明确收入本文作为参考。包含MMAE或MMAF及各种接头构件的通式I ADC的例示性实施方案具有如下结构和缩写（其中“Ab”是抗体；p是1到约8；“Val-Cit”或“vc”是缬氨酸-瓜氨酸二肽；而“S”是硫原子）。应当注意，在本文中硫连接的ADC的某些结构描述中，抗体表示成“Ab-S”，仅仅用于指明硫连接特征而非指明一个特定硫原子携带多个接头-药物模块。以下结构左边的圆括号也可以放置在硫原子的左边，在Ab与S之间，这会是本文全文描述的发明的ADC的等同描述。

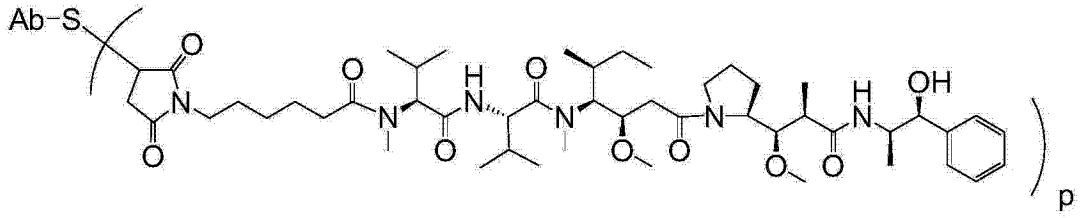
[1050]



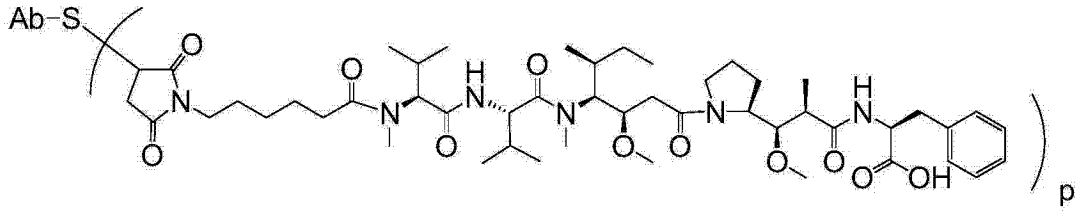
Ab-MC-vc-PAB-MMAF



Ab-MC-vc-PAB-MMAE



Ab-MC-MMAE



Ab-MC-MMAF

[1051] 包含 MMAF 及各种接头构件的通式 I ADC 的例示性实施方案进一步包括 Ab-MC-PAB-MMAF 和 Ab-PAB-MMAF。有趣的是，包含经不可蛋白水解切割的接头附着于抗体的 MMAF 的免疫偶联物显示出具有与包含经可蛋白水解切割的接头附着于抗体的 MMAF 的免疫偶联物相当的活性。参见 Doronina et al.(2006)Bioconjugate Chem.17:114-124。在这种情况中，认为药物释放是由细胞中的抗体降解来实现的。同上。

[1052] 典型的是，基于肽的药物模块可通过在两个或多个氨基酸和 / 或肽片段之间形成肽键来制备。此类肽键可依照例如肽化学领域众所周知的液相合成法来制备（参见 E. Schröder and K. Lübke，“The Peptides”，volume 1，pp 76-136，1965，Academic Press）。auristatin/ 多拉司他汀药物模块可依照以下文献中的方法来制备：US 2005-0238649 A1；美国专利 No.5635483；美国专利 No.5780588；Pettit et al(1989) J.Am.Chem.Soc.111:5463-5465；Pettit et al(1998)Anti-Cancer Drug Design 13:243-277；Pettit，G.R.，et al.Synthesis，1996，719-725；Pettit et al(1996)J.Chem. Soc.Perkin Trans.15:859-863；及 Doronina(2003)Nat.Biotechnol.21(7):778-784。

[1053] 具体而言，通式 D_F 诸如 MMAF 及其衍生物的 auristatin/ 多拉司他汀药物模块可

以使用 US 2005-0238649 A1 及 Doronina et al.(2006)Bioconjugate Chem.17:114-124 中记载的方法来制备。通式 D_E 诸如 MMAE 及其衍生物的 auristatin/ 多拉司他汀药物模块可以使用 Doronina et al.(2003)Nat.Biotech.21:778-784 中加载的方法来制备。可以通过常规方法方便地合成药物 - 接头模块 (moiety)MC-MMAF、MC-MMAE、MC-vc-PAB-MMAF 和 MC-vc-PAB-MMAE,例如 Doronina et al.(2003)Nat.Biotech.21:778-784 及美国专利申请公开号 US 2005/0238649 A1 中所记载的,然后将它们偶联至感兴趣的抗体。

[1054] (3) 加利车霉素

[1055] 在其它实施方案中,免疫偶联物包含偶联有一个或多个加利车霉素分子的抗体。加利车霉素抗生素家族能够在亚皮摩尔浓度生成双链 DNA 断裂。关于加利车霉素家族偶联物的制备参见美国专利 No.5,712,374 ;5,714,586 ;5,739,116 ;5,767,285 ;5,770,701 ;5,770,710 ;5,773,001 ;5,877,296(都授予美国 Cyanamid 公司)。可用的加利车霉素结构类似物包括但不限于 γ1I、α2I、α3I、N- 乙酰基 -γ1I、PSAG 和 θI1(Hinman et al.,Cancer Research 53:3336-3342(1993) ;Lode et al.,Cancer Research 58:2925-2928(1998) ;及上述授予美国 Cyanamid 公司的美国专利)。可与抗体偶联的另一种抗肿瘤药物是 QFA,它是一种抗叶酸药物。加利车霉素和 QFA 都具有胞内作用位点,且不易穿过质膜。因此,这些试剂经由抗体介导的内在化的细胞摄取大大增强了它们的细胞毒效应。

[1056] c. 其它细胞毒剂

[1057] 可与抗体偶联的其它抗肿瘤剂包括 BCNU、链佐星 (streptozoicin)、长春新碱 (vincristine)、5- 氟尿嘧啶、美国专利 No.5,053,394、5,770,710 中记载的统称为 LL-E33288 复合物的试剂家族、及埃斯波霉素类 (esperamicins)(美国专利 No.5,877,296)。

[1058] 可用的酶活性毒素及其片段包括白喉毒素 A 链、白喉毒素的非结合活性片段、外毒素 A 链 (来自铜绿假单胞菌 Pseudomonas aeruginosa)、蓖麻毒蛋白 (ricin)A 链、相思豆毒蛋白 (abrin)A 链、蒴莲根毒蛋白 (modeccin)A 链、α- 帚曲霉素 (sarcin)、油桐 (Aleutites fordii) 毒蛋白、香石竹 (dianthin) 毒蛋白、美洲商陆 (Phytolaca americana) 毒蛋白 (PAPI、PAPII 和 PAP-S)、苦瓜 (Momordica charantia) 抑制物、麻疯树毒蛋白 (curcin)、巴豆毒蛋白 (crotin)、肥皂草 (sapaonaria officinalis) 抑制物、白树毒蛋白 (gelonin)、丝林霉素 (mitogellin)、局限曲菌素 (restrictocin)、酚霉素 (phenomycin)、依诺霉素 (enomycin) 和单端孢菌素 (trichothecenes)。参见例如 1993 年 10 月 28 日公布的 WO 93/21232。

[1059] 本发明还设想了抗体和具有核酸降解活性的化合物 (如核糖核酸酶或 DNA 内切核酸酶,诸如脱氧核糖核酸酶 ;DNA 酶) 之间形成的免疫偶联物。

[1060] 在某些实施方案中,免疫偶联物可包含高度放射性原子。多种放射性同位素可用于生成放射偶联抗体。实例包括 At^{211}、I^{131}、I^{125}、Y^{90}、Re^{186}、Re^{188}、Sm^{153}、Bi^{212}、P^{32}、Pb^{212} 和 Lu 的放射性同位素。在将免疫偶联物用于检测时,可包含放射性原子用于闪烁照相研究,例如 Tc^{99m} 或 I^{123},或是包含自旋标记物用于核磁共振 (NMR) 成像 (也称为磁共振成像,MRI),诸如碘 -123、碘 -131、铟 -111、氟 -19、碳 -13、氮 -15、氧 -17、钆、锰或铁。

[1061] 可以已知方式将放射性或其它标记物掺入免疫偶联物。例如,可生物合成肽,或是

通过化学氨基酸合成法合成肽，其中使用涉及例如氟 -19 代替氢的合适氨基酸前体。可经肽中的半胱氨酸残基来附着标记物，诸如 Tc^{99m} 或 I^{123}、Re^{186}、Re^{188} 和 In^{111}。可以经赖氨酸残基来附着钇 -90。IODOGEN法 (Fraker et al. (1978) Biochem. Biophys. Res. Commun. 80:49-57) 可用于掺入碘 -123。《Monoclonal Antibodies in Immunoscintigraphy》(Chatal, CRC Press, 1989) 详细记载了其它方法。

[1062] 在某些实施方案中，免疫偶联物可以包含偶联至前体药物活化酶的抗体，所述前体药物活化酶能将前体药物 (例如肽基化疗剂，参见 WO 81/01145) 转变成活性药物，诸如抗癌药。此类免疫偶联物可用于抗体依赖性酶介导的前体药物疗法 (“ADEPT”)。可以偶联至抗体的酶包括但不限于可将含磷酸盐 / 酯的前体药物转变为游离药物的碱性磷酸酶 ；可将含硫酸盐 / 酯的前体药物转变为游离药物的芳基硫酸酯酶 ；可将无毒 5- 氟胞嘧啶转变为抗癌药物 5- 氟尿嘧啶的胞嘧啶脱氨酶 ；可将含肽的前体药物转变为游离药物的蛋白酶，诸如沙雷氏菌蛋白酶、嗜热菌蛋白酶、枯草杆菌蛋白酶、羧肽酶和组织蛋白酶 (诸如组织蛋白酶 B 和 L) ；可转化含 D- 氨基酸替代的前体药物的 D- 丙氨酰羧肽酶 ；可将糖基化前体药物转变为游离药物的碳水化合物切割酶类，诸如 β - 半乳糖苷酶和神经氨酸酶 ；可将 β - 内酰胺衍生的药物转变为游离药物的 β - 内酰胺酶 ；及可将在其胺氮处分别用苯氧乙酰基或苯乙酰基衍生的药物转变成游离药物的青霉素酰胺酶，诸如青霉素 V 酰胺酶或青霉素 G 酰胺酶。可以通过本领域众所周知的重组 DNA 技术将酶共价结合至抗体。参见例如 Neuberger et al., Nature 312:604-608 (1984)。

[1063] d. 药物载荷

[1064] 药物载荷 (loading) 由 p 表示，即通式 I 的分子中每个抗体的平均药物模块数。药物载荷的范围可以为每个抗体 1-20 个药物模块 (D)。通式 I 的 ADC 包括偶联有一定范围 (1-20 个) 药物模块的抗体的集合。来自偶联反应的 ADC 制备物中每个抗体的平均药物模块数可以通过常规手段来表征，诸如质谱、ELISA 测定法和 HPLC。还可以测定 ADC 在 p 方面的定量分布。在有些情况中，将 p 为某数值时的同质 ADC 从具有其它药物载荷的 ADC 中分离、纯化和表征可以通过诸如反相 HPLC 或电泳的手段来实现。式 I 抗体 - 药物偶联物的药物配制剂可以如此是抗体连接 1、2、3、4 或更多个药物模块的此类偶联物的异质混合物。

[1065] 对于有些抗体 - 药物偶联物，p 可能受到抗体上附着位点数目的限制。例如，若附着是半胱氨酸硫醇，正如上文例示性实施方案中的那样，则抗体可能只有一个或数个半胱氨酸硫醇基，或者可能只有一个或数个有足够反应性的硫醇基，可附着接头。在某些实施方案中，较高的药物载荷，例如 $p>5$，可引起某些抗体 - 药物偶联物的聚集、不溶性、毒性或丧失细胞通透性。在某些实施方案中，本发明 ADC 的药物载荷的范围为 1 到约 8 ；约 2 到约 6 ；或约 3 到约 5。事实上，对于某些 ADC 已经显示了每个抗体的药物模块的最佳比率可以为小于 8，可以为约 2 到约 5。参见 US 2005-0238649 A1。

[1066] 在某些实施方案中，在偶联反应中少于理论最大值的药物模块偶联至抗体。抗体可包含例如赖氨酸残基，其不与药物 - 接头中间物或接头试剂起反应，如下文所讨论的。一般而言，抗体不包含许多游离的和反应性的半胱氨酸硫醇基，其可连接药物模块 ；事实上，抗体中的大多数半胱氨酸硫醇基以二硫桥形式存在。在某些实施方案中，可以在部分或完全还原性条件下用还原剂诸如二硫苏糖醇 (DTT) 或三羰基乙基膦 (TCEP) 还原抗体以产生反应性半胱氨酸硫醇基。在某些实施方案中，将抗体置于变性条件以暴露反应性亲核基团，

诸如赖氨酸或半胱氨酸。

[1067] ADC 的载荷（药物 / 抗体比率）可以以不同方式来控制，例如通过：(i) 限制药物 - 接头中间物或接头试剂相对于抗体的摩尔过量，(ii) 限制偶联反应的时间或温度，和 (iii) 半胱氨酸硫醇修饰的部分或限制还原性条件。

[1068] 应当理解，若超过一个亲核基团与药物 - 接头中间物或者与接头试剂和接下来的药物模块试剂起反应，则所得产物是具有一个或多个药物模块附着于抗体之分布的 ADC 化合物混合物。可以通过对抗体特异性的和对药物特异性的双重 ELISA 抗体测定法自混合物计算每个抗体的平均药物数。混合物中的各种 ADC 分子可以通过质谱来鉴定，并通过 HPLC 来分离，例如疏水相互作用层析（参见例如 McDonagh et al(2006) Prot.Engr.Design&Selection19(7):299-307 ;Hamblett et al(2004)Clin.Cancer Res.10:7063-7070 ;Hamblett,K.J. 等，“Effect of drug loading on the pharmacology,pharmacokinetics,and toxicity of an anti-CD30antibody-drug conjugate,”摘要号 624,American Association for Cancer Research,2004Annual Meeting,2004 年 3 月 27-31 日 ,Proceedings of the AACR, 卷 45,March 2004 ;Alley,S.C. 等，“Controlling the location of drug attachment in antibody-drug conjugates,” 摘要号 627,American Association for Cancer Research,2004Annual Meeting,2004 年 3 月 27-31 日 ,Proceedings of the AACR, 卷 45,March 2004)。在某些实施方案中，可以通过电泳或层析从偶联混合物中分离具有均一载荷值的同质 ADC。

[1069] e. 制备免疫偶联物的某些方法

[1070] 可以采用本领域技术人员知道的有机化学反应、条件和试剂通过数种路径来制备通式 I 的 ADC，包括：(1) 抗体的亲核基团经共价键与二价接头试剂反应，经共价键形成 Ab-L，接着与药物模块 D 反应；和 (2) 药物模块的亲核基团与二价接头试剂反应，经共价键形成 D-L，接着与抗体的亲核基团反应。经后一种路径制备通式 I 的 ADC 的例示性方法记载于 US 2005-0238649 A1，明确收入本文作为参考。

[1071] 抗体的亲核基团包括但不限于：(i)N 末端胺基；(ii) 侧链胺基，例如赖氨酸；(iii) 侧链硫醇基，例如半胱氨酸；和 (iv) 糖基化抗体中糖的羟基或氨基。胺、硫醇和羟基是亲核的，能够与接头模块上的亲电子基团反应而形成共价键，而接头试剂包括：(i) 活性酯类，诸如 NHS 酯、HOBt 酯、卤代甲酸酯和酸性卤化物；(ii) 烷基和苄基卤化物，诸如卤代乙酰胺；(iii) 醛类、酮类、羧基和马来酰亚胺基团。某些抗体具有可还原的链间二硫键，即半胱氨酸桥。可通过还原剂诸如 DTT（二硫苏糖醇）或三羰基乙基膦 (TCEP) 处理使抗体完全或部分还原，从而具有与接头试剂偶联的反应活性。每个半胱氨酸桥理论上将形成两个反应性硫醇亲核体。可经由赖氨酸的修饰将额外亲核基团引入抗体，例如通过使赖氨酸残基与 2- 亚氨基硫烷 (Traut 氏试剂）起反应，导致胺转变为硫醇。可以通过导入一个、两个、三个、四个或更多个半胱氨酸残基（例如通过制备包含一个或多个非天然半胱氨酸氨基酸残基的变体抗体）而将反应性硫醇基导入抗体。

[1072] 还可通过抗体上的亲电子基团（诸如醛或酮羰基）与接头试剂或药物上的亲核基团之间的反应来生成本发明的抗体 - 药物偶联物。接头试剂上的有用亲核基团包括但不限于酰肼、肟、氨基、肼、缩氨基硫脲、肼羧酸酯和芳基酰肼。在一个实施方案中，修饰抗体以导入能够与接头试剂或药物上的亲核取代基起反应的亲电子模块。在另一个实施方案

中，可以用例如高碘酸盐氧化剂氧化糖基化抗体的糖，从而形成可与接头试剂或药物模块的胺基团反应的醛或酮基团。所得亚胺 Schiff 碱基可形成稳定的连接，或者可以用例如硼氢化物试剂还原而形成稳定的胺连接。在一个实施方案中，糖基化抗体的碳水化合物部分与半乳糖氧化酶或偏高碘酸钠的反应可以在抗体中生成羰基（醛基和酮基），它可与药物上的适宜基团反应 (Hermanson, Bioconjugate Techniques)。在另一个实施方案中，包含 N- 末端丝氨酸或苏氨酸残基的抗体可以与偏高碘酸钠反应，导致在第一个氨基酸处生成醛 (Geoghegan&Stroh, (1992)Bioconjugate Chem. 3:138-146 ;US 5362852)。这样的醛可与药物模块或接头亲核体反应。

[1073] 药物模块上的亲核基团包括但不限于 :胺、硫醇、羟基、酰肼、肟、肼、缩氨基硫脲、肼羧酸酯和芳基酰肼基团，它们能够与接头模块上的亲电子基团反应而形成共价键，而接头试剂包括 :(i) 活性酯类，诸如 NHS 酯、HOBt 酯、卤代甲酸酯和酸性卤化物 ;(ii) 烷基和苯甲基卤化物，诸如卤代乙酰胺 ;(iii) 醛类、酮类、羧基和马来酰亚胺基团。

[1074] 本发明的化合物明确涵盖但不限于用如下交联试剂制备的 ADC :BMPS、EMCS、GMBS、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMCC、SMPB、SMPH、sulfo-EMCS、sulfo-GMBS、sulfo-KMUS、sulfo-MBS、sulfo-SIAB、sulfo-SMCC 和 sulfo-SMPB、及 SVSB（琥珀酰亚氨基 -(4- 乙烯基砜）苯甲酸酯），它们可通过商业途径获得（例如 Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL., U.S.A ; 参见 2003-2004 年度应用手册和产品目录 (2003-2004Applications Handbook and Catalog) 第 467-498 页）。

[1075] 还可使用多种双功能蛋白质偶联剂来制备包含抗体和细胞毒剂的免疫偶联物，诸如 N- 琥珀酰亚氨基 -3-(2- 吡啶基二硫代）丙酸酯 (SPDP)、琥珀酰亚氨基 -4-(N- 马来酰亚氨基甲基）环己烷 -1- 羧酸酯 (SMCC)、亚氨基硫烷 (IT)、亚氨酸酯（诸如盐酸己二酰亚氨酸二甲酯）、活性酯类（诸如辛二酸二琥珀酰亚氨基酯）、醛类（诸如戊二醛）、双叠氮化合物（诸如双（对 - 叠氮苯甲酰基）己二胺）、双重氮衍生物（诸如双（对 - 重氮苯甲酰基）- 乙二胺）、二异硫氰酸酯（诸如甲苯 2,6- 二异氰酸酯）和双活性氟化合物（诸如 1,5- 二氟 -2,4- 二硝基苯）的双功能衍生物。例如，可如 Vitetta et al., Science 238:1098(1987) 中所述制备蓖麻毒蛋白免疫毒素。碳 -14 标记的 1- 异硫氰酸苯甲基 -3- 甲基二亚乙基三胺五乙酸 (MX-DTPA) 是用于将放射性核苷酸与抗体偶联的例示性螯合剂。参见 WO94/11026。

[1076] 或者，可通过例如重组技术或肽合成来制备包含抗体和细胞毒剂的融合蛋白。重组 DNA 分子可以包含各自编码偶联物的抗体和细胞毒部分的区域，彼此或是毗邻或是由编码接头肽的区域分开，该接头肽不破坏偶联物的期望特性。

[1077] 在又一个实施方案中，可以将抗体与“受体”（诸如链霉亲合素）偶联从而用于肿瘤预先靶向，其中对患者施用抗体 - 受体偶联物，接着使用清除剂由循环中清除未结合的偶联物，然后施用与细胞毒剂（如放射性核苷酸）偶联的“配体”（如亲合素）。

[1078] 例示性的免疫偶联物 — Thio- 抗体药物偶联物

[1079] a. 半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体的制备

[1080] 可通过多种方法制备编码本发明的亲本抗 CD79b 抗体和半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体的氨基酸序列变体的 DNA，包括但不限于自天然来源分离（在天然存在的氨基酸序列变体的情况中）、通过定点诱变（或寡核苷酸介导的诱变）(Carter 等 (1985)Nucleic

Acids Res. 13:4431-4443 ;Ho 等 (1989)Gene(Amst.)77:51-59 ;Kunkel 等 (1987)Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:488 ;Liu 等 (1998)J. Biol. Chem. 273:20252-20260)、PCR 诱变 (Higuchi,(1990) 于 PCRProtocols, pp. 177-183, Academic Press ;Ito 等 (1991) Gene 102:67-70 ;Bernhard 等 (1994)Bioconjugate Chem. 5:126-132 ; 及 Vallette 等 (1989)Nuc. Acids Res. 17:723-733) 和对较早制备的编码多肽的 DNA 的盒式诱变 (Wells 等 (1985)Gene 34:315-323) 来制备。诱变方案、试剂盒和试剂可通过商业途径获得，例如QuikChange® 多重定点诱变试剂盒 (Stratagene, La Jolla, CA)。还可以使用双链质粒 DNA 作为模板通过基于 PCR 的诱变通过寡核苷酸介导的诱变来生成单一诱变 (Sambrook 和 Russel, (2001)Molecular Cloning:A Laboratory Manual, 第 3 版 ;Zoller 等 (1983)Methods Enzymol. 100:468-500 ;Zoller, M. J. 和 Smith, M. (1982)Nucl. Acids Res. 10:6487-6500)。还可以通过限制性片段操作或通过使用合成寡核苷酸的交叠延伸 PCR 构建重组抗体的变体。诱变引物编码半胱氨酸密码子替换物。标准诱变技术可以用于产生编码此类突变型半胱氨酸改造抗体的 DNA(Sambrook 等 , Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y., 1989 ;及 Ausubel 等 , Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley-Interscience, New York, N. Y., 1993)。

[1081] 噬菌体展示技术 (McCafferty 等 , (1990)Nature 348:552-553) 可用于在体外从来自未免疫供体的免疫球蛋白可变域 (V) 基因全集生成抗 CD79b 人抗体和抗体片段。依照这种技术，将抗体可变域基因以符合读码框的方式克隆入丝状噬菌体诸如 M13 或 fd 的主要或次要外壳蛋白基因，并在噬菌体颗粒表面上展示为功能性抗体片段。因为丝状噬菌体颗粒包含噬菌体基因组的单链 DNA 拷贝，以抗体的功能特性为基础进行的选择也导致编码展示那些特性的抗体的基因得到选择。如此，噬菌体模拟 B 细胞的一些特性 (Johnson 等 (1993)Current Opinion in Structural Biology 3:564-571 ;Clackson 等 (1991) Nature, 352:624-628 ;Marks 等 (1991)J. Mol. Biol. 222:581-597 ;Griffith 等 (1993)EMBO J. 12:725-734 ;US 5565332 ;US 5573905 ;US 5567610 ;US 5229275)。

[1082] 抗 CD79b 抗体可以使用已知的寡肽合成方法来化学合成，或者可以使用重组技术来制备和纯化。适宜的氨基酸序列或其部分可以使用固相技术通过直接肽合成来生成 (Stewart 等 , Solid-Phase Peptide Synthesis, (1969)W. H. Freeman Co., San Francisco, CA ;Merrifield, (1963)J. Am. Chem. Soc., 85:2149-2154)。体外蛋白质合成可以使用手动技术或通过自动化来进行。自动化固相合成可以例如采用受 t-BOC 或 Fmoc 保护的氨基酸并使用 Applied Biosystems 肽合成仪 (Foster City, CA) 依照制造商的说明书来进行。抗 CD79b 抗体或 CD79b 多肽的各个部分可以分开地化学合成，并使用化学或酶促方法联合以生成期望的抗 CD79b 抗体或 CD79b 多肽。

[1083] 已经开发了用于生成抗体片段的多种技术。传统上，通过蛋白水解消化完整抗体来衍生这些片段 (Morimoto 等 (1992)Journal of Biochemical and Biophysical Methods 24:107-117 ;及 Brennan 等 (1985)Science, 229:81)，或者直接由重组宿主细胞生成这些片段。Fab、Fv 和 scFv 抗 CD79b 抗体片段都可在大肠杆菌中表达及由大肠杆菌分泌，如此容许容易地生成大量的这些片段。可以从上文讨论的噬菌体抗体库中分离抗体片段。或者，可以直接从大肠杆菌回收 Fab'-SH 片段并化学偶联以形成 $F(ab')_2$ 片段 (Carter 等 (1992)Bio/

Technology 10:163-167)，或者，直接从重组宿主细胞培养物分离 F(ab')$_2$ 片段。抗 CD79b 抗体可以是单链 Fv 片段 (scFv)(WO 93/16185 ;US 5571894 ;US 5587458)。抗 CD79b 抗体片段还可以是“线性抗体”(US 5,641,870)。此类线性抗体片段可以是单特异性的或双特异性的。

[1084] 下文描述主要涉及通过培养经包含抗 CD79b 抗体编码核酸的载体转化或转染的细胞来生成抗 CD79b 抗体。编码抗 CD79b 抗体的 DNA 可以得自认为具有抗 CD79b 抗体 mRNA 且以可检测水平表达之的组织制备的 cDNA 文库。因而，人抗 CD79b 抗体或 CD79b 多肽 DNA 可以方便地得自自人组织制备的 cDNA 文库。抗 CD79b 抗体编码基因还可以得自基因组文库或已知的合成规程 (例如自动化核酸合成)。

[1085] 本发明的设计、选择和制备方法能够得到具有亲电子官能度 (functionality) 反应性的半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体。这些方法进一步能够获得抗体偶联物化合物，诸如在指定的、设计的、选择性的位点上具有药物分子的抗体 - 药物偶联物 (ADC) 化合物。抗体表面上的反应性半胱氨酸残基容许通过硫醇反应性基团，诸如马来酰亚胺或卤代乙酰基特异性地偶联药物模块。Cys 残基的硫醇官能度与马来酰亚胺基团的亲核反应性高于蛋白质中任何其它氨基酸官能度，诸如赖氨酸残基的氨基或 N- 末端氨基约 1000 倍。碘乙酰基和马来酰亚胺试剂中的硫醇特异性官能度可以与胺基团反应，但需要更高的 pH(>9.0) 和更长的反应时间 (Garman, 1997, Non-Radioactive Labelling:A Practical Approach, Academic Press, London)。可以通过标准 Ellman 测定法来估计蛋白质中游离硫醇的量。免疫球蛋白 M 为二硫化物连接的五聚体的例子，而免疫球蛋白 G 为内部二硫桥将各亚基键合在一起的蛋白质的例子。在诸如这种蛋白质中，用诸如二硫苏糖醇 (DTT) 或硒醇还原二硫键 (Singh 等 (2002)Anal. Biochem. 304:147-156) 是产生反应性游离硫醇所需的。这种方法可以导致抗体的三级结构和抗原结合特异性丧失。

[1086] PHESELECTOR(用于选择反应性硫醇的噬菌体 ELISA) 测定法容许以 ELISA 噬菌体形式检测抗体中反应性半胱氨酸基团，由此辅助半胱氨酸改造抗体的设计 (Junutula, J. R. et al. (2008) J Immunol Methods 332:41-52 ;WO 2006/034488 ;US 2007/0092940)。在孔表面上包被半胱氨酸改造抗体，随后与噬菌体颗粒一起温育，添加 HRP 标记的二抗，并检测吸光度。可以以快速、有力和高流通量方式筛选噬菌体上展示的突变蛋白。可以使用与从抗体或其它蛋白质的随机蛋白质 - 噬菌体文库鉴定游离 Cys 掺入的适当反应性位点相同的方法生成半胱氨酸改造抗体的文库并且进行结合选择。这项技术包括使噬菌体上展示的半胱氨酸突变蛋白与也为硫醇反应性的亲和试剂或报告基团反应。

[1087] PHESELECTOR 测定法容许筛选抗体中的反应性硫醇基团。通过该方法鉴定 A121C 变体是例示性的。可以高效地搜索整个 Fab 分子以鉴定更多的带有反应性硫醇基团的 ThioFab 变体。采用参数，表面可及分数 (fractional surfaceaccessibility) 来鉴定和量化溶剂对多肽中氨基酸残基的可及性。将表面可及性表述为可以由溶剂分子，例如水接触的表面积($Å^2$)。水占据的空间近似为1.4Å 半径球体。软件为自由可获得的或可许可的 (Secretary to CCP4, Daresbury Laboratory, Warrington, WA44AD, United Kingdom, Fax:(+44)1925603825，或通过因特网 :www.ccp4.ac.uk/dist/html/INDEX.html)，如使用计算具有已知 X 射线晶体学衍生坐标的蛋白质的每个氨基酸的表面可及性的算法的晶体学程序 CCP4Suite(“The CCP4Suite:Programs for Protein

Crystallography”(1994)Acta.Cryst.D50:760-763)。执行表面可及性计算的两种例示性软件模块为“AREAIMOL”和“SURFACE”,其基于B.Lee和F.M.Richards(1971)J.Mol.Biol.55:379-400的算法。AREAIMOL将蛋白质的溶剂可及表面定义为探针球(probe sphere)(代表溶剂分子)在蛋白质的Van der Waals表面上翻转时其中心的位置。AREAIMOL如下计算溶剂可及表面积,即在关于每个原子的扩充球体上产生表面点(距原子中心的距离等于原子和探针半径的总和),并且消除那些位于与相邻原子相关的等同球体内的点。AREAIMOL找到了PDB坐标文件中原子的溶剂可及面积并概括了残基、链和整个分子的可及面积。可以将各原子的可及面积(或面积差)存储成假拟-PDB输出文件。AREAIMOL假设了每个成分的单一半径并仅识别有限数量的不同成分。

[1088] AREAIMOL和SURFACE报导了绝对可及性,即平方埃(Å)数。通过参比多肽内氨基酸相关标准状态来计算表面可及分数。参比状态为三肽Gly-X-Gly,其中X为感兴趣的氨基酸,且参比状态应为“扩展的”构象,即像那些在β链中的构象。扩展的构象使X的可及性达到最大值。用计算的可及面积除以Gly-X-Gly三肽参比状态中的可及面积并报告商数,其为可及性分数。可及性百分比为可及性分数乘以100。计算表面可及性的另一种例示性算法基于程序xsae的SOLV模块(Broger,C.,F.Hoffman-LaRoche,Basel),它基于多肽的X射线坐标计算氨基酸残基对水球体的可及性分数。可以使用可得到的晶体结构信息来计算抗体中每个氨基酸的表面可及性分数(Eigenbrot等(1993)J Mol Biol.229:969-995)。

[1089] 编码半胱氨酸改造抗体的DNA易于使用常规规程来分离和测序(例如通过使用能够与编码鼠抗体重链和轻链的基因特异性结合的寡核苷酸探针)。杂交瘤细胞充当此类DNA的来源。一旦分离,可以将DNA置入表达载体,然后转染入原本不生成抗体蛋白质的宿主细胞,诸如大肠杆菌细胞、猿COS细胞、中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或其它哺乳动物宿主细胞,诸如骨髓瘤细胞(US 5807715;US 2005/0048572;US 2004/0229310),以获得单克隆抗体在重组宿主细胞中的合成。

[1090] 在设计和选择后,可如下生成具有改造的、高度反应性的未配对的Cys残基的半胱氨酸改造抗体,例如ThioFab:(i)在细菌例如大肠杆菌系统(Skerra等(1993)Curr.Opinion in Immunol.5:256-262;Plückthun(1992)Immunol.Revs.130:151-188)或哺乳动物细胞培养物系统(WO 01/00245)例如中国仓鼠卵巢细胞(CHO)中表达;和(ii)使用常用的蛋白质纯化技术纯化(Lowman等(1991)J.Biol.Chem.266(17):10982-10988)。

[1091] 改造的Cys硫醇基团与亲电子的接头试剂和药物-接头中间体起反应而形成半胱氨酸改造抗体-药物偶联物和其它经标记的半胱氨酸改造抗体。半胱氨酸改造抗体的和存在于亲本抗体中的、配对并形成链间和链内二硫键的Cys残基不具有任何反应性硫醇基团(除非用还原剂处理)且不与亲电子的接头试剂或药物-接头中间体起反应。新近改造的Cys残基可以保持不配对,而且能够与亲电子的接头试剂或药物-接头中间体(诸如药物-马来酰亚胺)起反应(即偶联)。例示性的药物-接头中间体包括:MC-MMAE、MC-MMAF、MC-vc-PAB-MMAE和MC-vc-PAB-MMAF。重链和轻链中经改造的Cys残基的结构位置依照连续编号系统来编号。此连续编号系统与自N末端起始的Kabat编号系统(Kabat等(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版,Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD)有关,与Kabat编号方案(底行)的区别在于标示为a、b、c的插入。使用Kabat编号系统,实际的线性氨基酸序列可包含减

少的或添加的氨基酸，对应于可变域 FR 或 CDR 中的缩短或插入。经半胱氨酸改造的重链变体位点通过连续编号方式和 Kabat 编号方案来标示。

[1092] 在一个实施方案中，通过包括下列步骤的方法制备半胱氨酸改造的抗 CD79b 抗体：

[1093] (a) 用半胱氨酸替代亲代抗 CD79b 抗体的一个或多个氨基酸残基；和

[1094] (b) 通过使半胱氨酸改造的抗 CD79b 抗体与巯基 - 反应试剂反应测定半胱氨酸改造的抗体的巯基反应性 (thiol reactivity)。

[1095] 半胱氨酸改造的抗体可以比亲代抗体更具与巯基 - 反应试剂的反应性。

[1096] 游离半胱氨酸氨基酸残基可以位于重链或轻链中或恒定域或可变域（区）中。还可以通过用一个或多个半胱氨酸氨基酸替代抗体片段的氨基酸来改造抗体片段，例如 Fab，以便形成半胱氨酸改造的抗体片段。

[1097] 本发明的另一个实施方案提供了制备半胱氨酸改造的抗 CD79b 抗体的方法，包括：

[1098] (a) 将一个或多个半胱氨酸氨基酸引入亲代抗 CD79b 抗体以便生成半胱氨酸改造的抗 CD79b 抗体；和

[1099] (b) 测定半胱氨酸改造的抗体与巯基 - 反应试剂的巯基反应性；

[1100] 其中半胱氨酸改造的抗体比亲代抗体更具与巯基 - 反应试剂的反应性。

[1101] 制备半胱氨酸改造的抗体的方法的步骤 (a) 可以包含：

[1102] (i) 诱变编码半胱氨酸改造的抗体的核酸序列；

[1103] (ii) 表达半胱氨酸改造的抗体；和

[1104] (iii) 分离和纯化半胱氨酸改造的抗体。

[1105] 制备半胱氨酸改造的抗体的方法的步骤 (b) 可以包含表达选自噬菌体或噬菌粒颗粒的病毒颗粒上的半胱氨酸改造的抗体。

[1106] 制备半胱氨酸改造的抗体的方法的步骤 (b) 还可以包含：

[1107] (i) 使半胱氨酸改造的抗体与巯基 - 反应性亲和试剂反应而生成亲和标记的半胱氨酸改造的抗体；和

[1108] (ii) 测定亲和标记的半胱氨酸改造的抗体与俘获介质的结合。

[1109] 本发明的另一个实施方案为筛选带有高反应性的未配对的半胱氨酸氨基酸的半胱氨酸改造的抗体的巯基反应性的方法，包含：

[1110] (a) 将一个或多个半胱氨酸氨基酸导入亲代抗体以便产生半胱氨酸改造的抗体；

[1111] (b) 使半胱氨酸改造的抗体与巯基 - 反应性亲和试剂反应而生成亲和标记的半胱氨酸改造的抗体；和

[1112] (c) 测定亲和标记的半胱氨酸改造的抗体与俘获介质的结合；和

[1113] (d) 测定半胱氨酸改造的抗体与巯基 - 反应试剂的巯基反应性。

[1114] 筛选半胱氨酸改造的抗体的方法的步骤 (a) 可以包含：

[1115] (i) 诱变编码半胱氨酸改造的抗体的核酸序列；

[1116] (ii) 表达半胱氨酸改造的抗体；和

[1117] (iii) 分离和纯化半胱氨酸改造的抗体。

[1118] 筛选半胱氨酸改造的抗体的方法的步骤 (b) 可以包含表达选自噬菌体或噬菌粒

颗粒的病毒颗粒上的半胱氨酸改造的抗体。

[1119] 筛选半胱氨酸改造的抗体的方法的步骤 (b) 还可以包含 :

[1120] (i) 使半胱氨酸改造的抗体与巯基 - 反应性亲和试剂反应而生成亲和标记的半胱氨酸改造的抗体 ;和

[1121] (ii) 测定亲和标记的半胱氨酸改造的抗体与俘获介质的结合。

[1122] b. 抗 CD79b IgG 变体的半胱氨酸改造

[1123] 通过本文所述半胱氨酸工程改造方法,将半胱氨酸在重链 118(EU 编号方式)(相当于连续编号方式的重链第 118 位) 位点处导入全长、嵌合亲本单克隆抗 CD79b 抗体,或者在轻链 205(Kabat 编号方式)(相当于连续编号方式的轻链第 209 位) 位点处导入全长、嵌合亲本单克隆抗 CD79b 抗体。

[1124] 生成了在重链 118(EU 编号方式) 处具有半胱氨酸的半胱氨酸改造抗体 :(a) thio-MA79b.v17-HC(A118C), 其具有重链序列 (SEQ ID NO:228) 和轻链序列 (SEQ ID NO:229), 图 24 ;(b)thio-MA79b.v18-HC(A118C), 其具有重链序列 (SEQ ID NO:230) 和轻链序列 (SEQ ID NO:231), 图 25 ;(c)thio-MA79b.v28-HC(A118C), 其具有重链序列 (SEQ ID NO:232) 和轻链序列 (SEQ ID NO:233), 图 26 ;(d)thio-MA79b-HC(A118C), 其具有重链序列 (SEQ ID NO:236) 和轻链序列 (SEQ ID NO:237), 图 28 ; 和 (e) thio-anti-cynoCD79b-HC(A118C), 其具有重链序列 (SEQ ID NO:244) 和轻链序列 (SEQ ID NO:245), 图 48。

[1125] 生成了在轻链 205(Kabat 编号方式) 处具有半胱氨酸的半胱氨酸改造抗体 :(a) thio-MA79b-LC(V205C), 其具有重链序列 (SEQ ID NO:234) 和轻链序列 (SEQ ID NO:235), 图 27 和 (b)thio-anti-cynoCD79b(ch10D10)-LC(V205C), 其具有重链序列 (SEQ ID NO:299) 和轻链序列 (SEQ ID NO:300), 图 49。

[1126] 通过含 1mM 半胱氨酸的培养基中的瞬时发酵,在 CHO(中国仓鼠卵巢) 细胞中表达这些半胱氨酸改造的单克隆抗体。

[1127] 依照一个实施方案,人源化 MA79b 半胱氨酸改造的抗 CD79b 抗体包含一个或多个具有游离半胱氨酸氨基酸的如下可变区重链序列 (SEQ ID NO:251-259, 表 2)。

[1128] 表 2 : 人源化 MA79b 半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体变体的连续、Kabat 和 Eu 编号方式的重链比较

[1129]

序列	连续编号	KABAT 编号	EU 编号	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

[1130] 依照一个实施方案，嵌合 MA79b 半胱氨酸改造的抗 CD79b 抗体包含一个或多个具有游离半胱氨酸氨基酸的如下重链序列 (SEQ ID NO:260-268，表 3)。

[1131] 表 3 :chMA79b 半胱氨酸改造的抗 CD79b 抗体变体的连续、Kabat 和 Eu 编号方式的重链比较

[1132]

序列	连续编号	KABAT 编号	EU 编号	SEQ ID NO:
EVQLCQSGAE	Q5C	Q5C		260

[1133]

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

[1134] 依照一个实施方案，anti-cynoCD79b(ch10D10) 半胱氨酸改造的抗 CD79b 抗体包含一个或多个具有游离半胱氨酸氨基酸的如下重链序列 (SEQ ID NO:269-277，表 4)。

[1135] 表 4 :anti-cynoCD79b(ch10D10) 半胱氨酸改造的抗 CD79b 抗体变体的连续、Kabat 和 EU 编号方式的重链比较

[1136]

序列	连续编号	KABAT 编号	EU 编号	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

[1137] 依照一个实施方案，人源化 MA79b 半胱氨酸改造的抗 CD79b 抗体包含一个或多个具有游离半胱氨酸氨基酸的如下轻链序列 (SEQ ID NO:278-284，表 5)。

[1138] 表 5 :人源化 MA79b 半胱氨酸改造的抗 CD79b 抗体变体的连续和 Kabat 编号方式的轻链比较

[1139]

序列	连续编号	KABAT 编号	SEQ ID NO:
SLSASCGDRVT	V15C	V15C	278

[1140]

EIKRTCAAPSV	V114C	V110C	279
TVAAPCVFIFP	S118C	S114C	280
FIFPPCDEQLK	S125C	S121C	281
DEQLKCGTASV	S131C	S127C	282
VTEQDCKDSTY	S172C	S168C	283
GLSSPCTKSFN	V209C	V205C	284

[1141] 依照一个实施方案，嵌和 MA79b 半胱氨酸改造的抗 CD79b 抗体包含一个或多个具有游离半胱氨酸氨基酸的如下轻链序列 (SEQ ID NO:285-291，表 6)。

[1142] 表 6 :嵌和 MA79b 半胱氨酸改造的抗 CD79b 抗体变体的连续和 Kabat 编号方式的轻链比较

[1143]

序列	连续编号	KABAT 编号	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

[1144] 依照一个实施方案，anti-cynoCD79b(ch10D10) 半胱氨酸改造的抗 CD79b 抗体包含一个或多个具有游离半胱氨酸氨基酸的如下轻链序列 (SEQ ID NO:292-298，表 7)。

[1145] 表 7 :anti-cynoCD79b(ch10D10) 半胱氨酸改造的抗 CD79b 抗体变体的连续和 Kabat 编号方式的轻链比较

[1146]

序列	连续编号	KABAT 编号	SEQ ID NO:
SLAVSCGQRAT	L15C	L15C	292
EIKRTCAAPSV	V114C	V110C	293
TVAAPCVFIFP	S118C	S114C	294
FIFPPCDEQLK	S125C	S121C	295
DEQLKCGTASV	S131C	S127C	296

[1147]

VTEQDCKDSTY	S172C	S168C	297
GLSSPCTKSFN	V209C	V205C	298

[1148] c. 经过标记的半胱氨酸改造的抗 CD79b 抗体

[1149] 半胱氨酸改造的抗 CD79b 抗体可以位点特异性地和有效地与硫醇反应性试剂偶联。硫醇反应性试剂可以是多官能接头试剂 (multifunctional linker reagent)；捕捉（即亲和、标记）试剂（例如生物素 - 接头试剂）；检测标记物（例如荧光团试剂）；固相固定化试剂（例如 SEPHAROSE™、聚苯乙烯或玻璃）；或药物 - 接头中间体。硫醇反应性试剂的一个例子是 N- 乙基马来酰亚胺 (NEM)。在一个例示性的实施方案中，ThioFab 与生物素 - 接头试剂反应得到生物素化的 ThioFab，通过这种方式可以检测和测量改造的半胱氨酸残基的存在和反应性。ThioFab 与多官能接头试剂反应得到带有可以与药物模块试剂或其它标记物进一步反应的官能化接头的 ThioFab。ThioFab 与药物 - 接头中间体反应得到 ThioFab 药物偶联物。

[1150] 本文所述例示性方法一般可应用于鉴定和生产抗体，并且更一般地通过应用本文所述的设计和筛选步骤用于其它蛋白质。

[1151] 此类办法可应用于偶联其它硫醇反应性试剂，其中反应性基团是例如马来酰亚胺、碘乙酰胺、吡啶基二硫化物或其它硫醇反应性偶联配偶体 (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, pp. 40-55, 643-671)。硫醇反应性试剂可以是药物模块；荧光团，诸如荧光染料，像荧光素或若丹明；用于成像的螯合剂或放射性治疗金属；肽基或非肽基标记物或检测标记；或清除改性剂 (clearance-modifying agent)，诸如聚乙二醇的各种异构体；结合第三种成分的肽或另一种碳水化合物或亲脂性试剂。

[1152] d. 半胱氨酸改造的抗 CD79b 抗体的用途

[1153] 半胱氨酸改造的抗 CD79b 抗体及其偶联物可用作治疗和 / 或诊断试剂。本发明进一步提供了预防、管理、治疗或改善与 B 细胞相关病症有关的一种或多种症状的方法。具体而言，本发明提供了预防、管理、治疗或改善与细胞增殖性病症有关的一种或多种症状的方法，诸如癌症，例如淋巴瘤、非何杰金氏淋巴瘤 (NHL)、攻击性 NHL、复发性攻击性 NHL、复发性无痛性 NHL、顽固性 NHL、顽固性无痛性 NHL、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)、小淋巴细胞淋巴瘤、白血病、毛细胞白血病 (HCL)、急性淋巴细胞性白血病 (ALL) 和套细胞淋巴瘤。本发明还进一步提供了诊断 CD79b 相关病症或发生此类病症的素因的方法，以及鉴定优先结合 B 细胞结合 (cell-associated) CD79b 多肽的抗体和抗体的抗原结合片段的方法。

[1154] 本发明的另一个实施方案致力于半胱氨酸改造的抗 CD79b 抗体用于制备药物的用途，所述药物在对 B 细胞相关病症有响应的疾患的治疗中是有用的。

[1155] e. 半胱氨酸改造的抗体药物偶联物 (Thio- 抗体药物偶联物 (TDC))

[1156] 本发明的另一个方面是抗体 - 药物偶联物化合物，其包含半胱氨酸改造的抗 CD79b 抗体 (Ab) 和 auristatin 药物模块 (D)，其中半胱氨酸改造的抗体经由一个或多个游离的半胱氨酸氨基酸通过接头模块 (L) 附着至 D；该化合物具有式 I：

[1157] Ab-(L-D)p I

[1158] 其中 p 为 1, 2, 3, 或 4；且其中所述半胱氨酸改造的抗体是通过如下方法制备的，即包括用一个或多个游离的半胱氨酸氨基酸替换亲本抗 CD79b 抗体的一个或多个氨基酸残基。

[1159] 本发明的另一个方面是包含式 I 的抗体 - 药物化合物的混合物的组合物，其中每个抗体的平均药物载荷是约 2 个至约 5 个或约 3 个至约 4 个。

[1160] 图 24-28 和 48-49 显示了半胱氨酸改造的抗 CD79b 抗体药物偶联物 (ADC) 的实施方案，其中 auristatin 药物模块附着至轻链 (LC-ADC) 或重链 (HC-ADC) 中的改造的半胱氨酸基团。

[1161] 半胱氨酸改造的抗 CD79b 抗体药物偶联物的潜在优点包括安全性改善（治疗指数更大）；PK 参数改善；抗体链间二硫键得到保留，这可稳定偶联物并保留其活性结合构象；药物偶联位点确定；及自半胱氨酸改造抗体与药物 - 接头试剂的偶联制备半胱氨酸改造抗

体药物偶联物导致更均一的产物。

[1162] 接头

[1163] “接头”、“接头单元”或“连接”指包含使抗体共价附着于药物模块的共价键或原子链的化学模块。在各个实施方案中，接头以 L 表示。“接头”(L) 为可用于连接一个或多个药物模块 (D) 和抗体单元 (Ab) 而形成通式 I 的抗体 - 药物偶联物 (ADC) 的双功能或多功能模块。可以使用具有供结合药物和抗体用的反应性官能度的接头而便利地制备抗体 - 药物偶联物 (ADC)。半胱氨酸改造抗体 (Ab) 的半胱氨酸硫醇可以与接头试剂、药物模块或药物 - 接头中间体的亲电子官能团形成键。

[1164] 一方面，接头具有反应性位点，该位点具有与存在于抗体上的亲核半胱氨酸具有反应性的亲电子基团。抗体的半胱氨酸硫醇与接头上的亲电子基团具有反应性并且与接头形成共价键。有用的亲电子基团包括但不限于马来酰亚胺和卤代乙酰胺基团。

[1165] 接头包括：二价基，诸如亚烃基 (alkyldiyl)、亚芳基、亚杂芳基；模块，诸如 $-(CR_2)_nO(CR_2)_n-$、烷氧基重复单元（例如聚亚乙基氧基 (polyethylenoxy)、PEG、聚亚甲基氧基 (polymethyleneoxy)）和烷氨基（例如聚乙烯氨基，Jeffamine™）；及二酸酯和酰胺，包括琥珀酸酯、琥珀酰胺、二乙醇酸酯、丙二酸酯和己酰胺。

[1166] 半胱氨酸改造抗体与接头试剂或药物 - 接头中间体，与亲电子官能团诸如马来酰亚胺或 α - 卤代羰基依照 Klussman 等 (2004)Bioconjugate Chemistry15(4):765-773,766 页上的偶联方法和依照实施例 6 的方案起反应。

[1167] 接头可以由一种或多种接头构件构成。例示性的接头构件包括 6- 马来酰亚氨基己酰基（“MC”）、马来酰亚氨基丙酰基（“MP”）、缬氨酸 - 瓜氨酸（“val-cit”或“vc”）、丙氨酸 - 苯丙氨酸（“ala-phe”或“af”）、对氨基苄氧羰基（“PAB”）、N- 琥珀酰亚氨基 4-(2- 吡啶基硫代）戊酸酯（“SPP”）、N- 琥珀酰亚氨基 4-(N- 马来酰亚氨基甲基）环己烷 -1 羧酸酯（“SMCC”）和 N- 琥珀酰亚氨基 (4- 碘 - 乙酰基）氨基苯甲酸酯（“SIAB”）、亚乙基氧基 $-CH_2CH_2O-$ 作为一个或多个重复单元（“EO”或“PEO”）。本领域知道别的接头构件，本文中也描述了一些。

[1168] 在一个实施方案中，ADC 的接头 L 具有通式：

[1169] $-A_a-W_w-Y_y-$

[1170] 其中：

[1171] -A- 为共价附着于抗体 (Ab) 半胱氨酸硫醇的延伸物单元；

[1172] a 为 0 或 1；

[1173] 每个 -W- 独立为氨基酸单元；

[1174] w 独立为 0-12 的整数；

[1175] -Y- 为共价附着于药物模块的间隔物 (spacer) 单元；且 y 为 0、1 或 2。

[1176] 延伸物单元

[1177] 当存在时，延伸物单元 (-A-) 能够连接抗体单元与氨基酸单元 (-W-)。在这方面，抗体 (Ab) 具有能与延伸物的官能团形成键的官能团。抗体上能存在（天然的或经化学操作的）的有用的官能团包括但不限于硫氢基 (-SH)、氨基、羟基、羧基、碳水化合物的异头羟基和羧基。在一个方面，所述抗体官能团是硫氢基或氨基。可以通过还原抗体的分子内二硫键来生成硫氢基。或者，可以通过用 2- 亚氨基，硫烷 (Traut 氏试剂）或其它硫氢基生

成试剂使抗体的赖氨酸模块的氨基来生成硫氢基。在一个实施方案中，抗体 (Ab) 具有能与延伸物单元的亲电子官能团形成键的游离半胱氨酸硫醇基团。式 II 和 III 描绘了式 I 中的例示性延伸物单元，其中 Ab-、-W-、-Y-、-D、w 和 y 如上文所定义且 R^{17} 为选自下列的二价基：$(CH_2)_r$、C_3-C_8 碳环基、O-$(CH_2)_r$、亚芳基、$(CH_2)_r$- 亚芳基、- 亚芳基 -$(CH_2)_r$-、$(CH_2)_r$-(C_3-C_8 碳环基)、(C_3-C_8 碳环基)-$(CH_2)_r$、C_3-C_8 杂环基、$(CH_2)_r$-(C_3-C_8 杂环基)、-(C_3-C_8 杂环基)-$(CH_2)_r$-、-$(CH_2)_rC(O)NR^b(CH_2)_r$-、-$(CH_2CH_2O)_r$-、-$(CH_2CH_2O)_r$-CH_2-、-$(CH_2)_rC(O)NR^b(CH_2CH_2O)_r$-、-$(CH_2)_rC(O)NR^b(CH_2CH_2O)_r$-$CH_2$-、-$(CH_2CH_2O)_rC(O)NR^b(CH_2CH_2O)_r$-、-$(CH_2CH_2O)_rC(O)NR^b(CH_2CH_2O)_r$-$CH_2$- 和 -$(CH_2CH_2O)_rC(O)NR^b(CH_2)_r$-；其中 R^b 为 H、C_1-C_6 烃基（烷基）、苯基或苄基；且 r 独立地为范围 1-10 的整数。

[1178] 亚芳基包括通过从芳族环体系中除去两个氢原子而衍生的 6-20 个碳原子的二价芳族烃基。典型的亚芳基包括但不限于衍生自苯、取代的苯、萘、蒽、联苯等的基团。

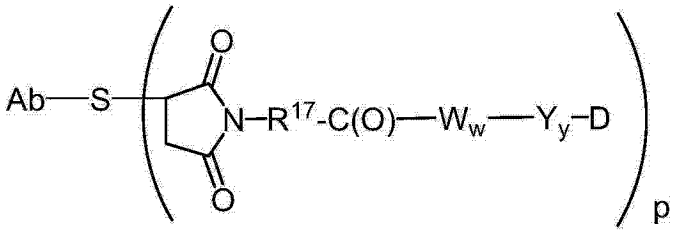
[1179] 杂环基包括一个或多个环原子为杂原子（例如氮、氧和硫）的环体系。杂环基包含 1-20 个碳原子和 1-3 个选自 N、O、P 和 S 的杂原子。杂环可以为具有 3-7 个环成员的单环 (2-6 个碳原子和 1-3 个选自 N、O、P 和 S 的杂原子）或具有 7-10 个环成员的双环 (4-9 个碳原子和 1-3 个选自 N、O、P 和 S 的杂原子)，例如：双环 [4,5]，[5,5]，[5,6] 或 [6,6] 体系。杂环记载于 Paquette, Leo A.；“Principles of Modern Heterocyclic Chemistry”, W.A. Benjamin, New York, 1968, 特别是 1, 3, 4, 6, 7, 和 9 章；“The Chemistry of Heterocyclic Compound, A series of Monographs”, John Wiley&Sons, New York, 1950 至今，特别是卷 13, 14, 16, 19, 和 28；及 J. Am. Chem. Soc. (1960) 82:5566。

[1180] 举例而言而非限制，杂环的例子包括：吡啶基、二氢吡啶基、四氢吡啶基（哌啶基）、噻唑基、四氢噻吩基 (tetrahydrothiophenyl)、硫氧化的四氢噻吩基、嘧啶基、呋喃基、噻吩基 (thienyl)、吡咯基、吡唑基、咪唑基、四唑基、苯并呋喃基、硫杂萘基 (thianaphthalenyl)、吲哚基、indolenyl、喹啉基、异喹啉基、苯并咪唑基、哌啶基、4- 哌啶酮基、吡咯烷基、2- 吡咯烷酮基、吡咯啉基、四氢呋喃基、双 - 四氢呋喃基 (bis-tetrahydrofuranyl)、四氢吡喃基、双 - 四氢吡喃基 (bis-tetrahydropyranyl)、四氢喹啉基、四氢异喹啉基、十氢喹啉基、八氢喹啉基、吖辛因基 (azocinyl)、三嗪基、6H-1, 2, 5- 噻二嗪基、2H, 6H-1, 5, 2- 二噻嗪基、噻吩基、噻蒽基、吡喃基、异苯并呋喃基、色烯基、呫吨基、酚噁噻基 (phenoxathinyl)、2H- 吡咯基、异噻唑基、异噁唑基、吡嗪基、哒嗪基、吲嗪基、异吲哚基、3H- 吲哚基、1H- 吲唑基、嘌呤基、4H- 喹嗪基、酞嗪基、萘啶基、喹喔啉基、喹唑啉基、噌啉基、蝶啶基、4Ah- 咔唑基、咔唑基、β - 咔啉基、菲啶基、吖啶基、嘧啶基、菲咯啉基、吩嗪基、吩噻嗪基、呋咱基、吩噁嗪基、异色满基、色满基、咪唑烷基、咪唑啉基、吡唑烷基、吡唑啉基、哌嗪基、二氢吲哚基、异二氢吲哚基、奎宁环基、吗啉基、噁唑烷基、苯并三唑基、苯并异噁唑基、羟吲哚基、苯并噁唑啉基和靛红酰基 (isatinoyl)。

[1181] 碳环基包括具有 3-7 个碳原子（作为单环）或 7-12 个碳原子（作为双环）的饱和或不饱和环。单环碳环具有 3-6 个环原子，更通常地为 5 或 6 个环原子。双环碳环具有 7-12 个环原子，例如排列成双环 [4,5]，[5,5]，[5,6] 或 [6,6] 体系，或者 9 或 10 个环原子，排列成双环 [5,6] 或 [6,6] 体系。单环碳环的例子包括环丙基、环丁基、环戊基、1- 环戊 -1- 烯基、1- 环戊 -2- 烯基、1- 环戊 -3- 烯基、环己基、1- 环己 -1- 烯基、1- 环己 -2- 烯基、1- 环己 -3- 烯基、环庚基和环辛基。

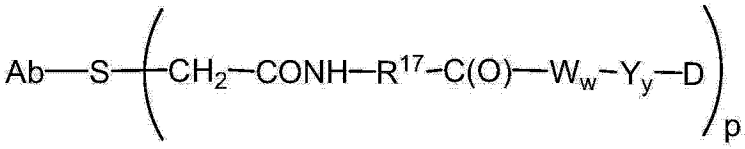
[1182] 根据式 I ADC 的所有例示性实施方案诸如 II-VI 应当理解，即使在未明确表述的情况中，有 1-4 个药物模块与抗体连接 (p = 1-4)，这取决于改造的半胱氨酸残基的数目。

[1183]



II

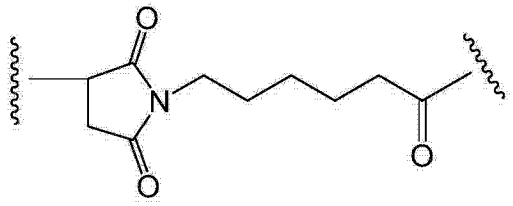
[1184]



III

[1185] 一种例示性式 II 延伸物单元衍生自马来酰亚氨基 - 己酰基 (MC)，其中 R^{17} 为 $-(CH_2)_5-$：

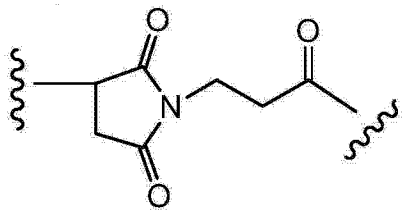
[1186]



MC

[1187] 一种例示性式 II 延伸物单元衍生自马来酰亚氨基 - 丙酰基 (MP)，其中 R^{17} 为 $-(CH_2)_2-$：

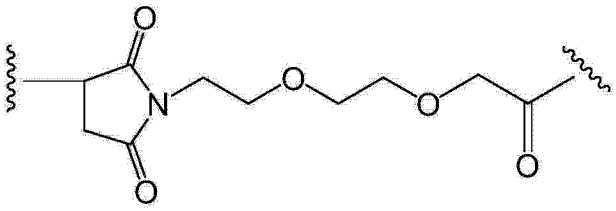
[1188]



MP

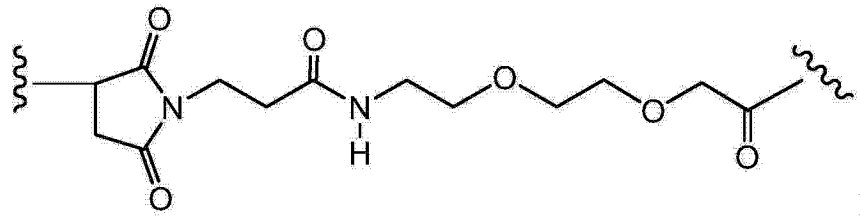
[1189] 另一种例示性式 II 延伸物单元，其中 R^{17} 为 $-(CH_2CH_2O)_r-CH_2-$ 且 r 为 2：

[1190]



[1191] 另一种例示性式 II 延伸物单元，其中 R^{17} 为 $-(CH_2)_rC(O)NR^b(CH_2CH_2O)_r-CH_2-$，其中 R^b 为 H 且每个 r 为 2：

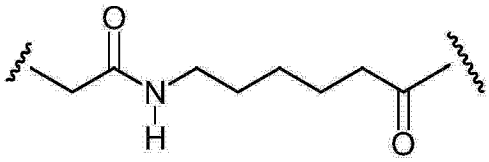
[1192]



MPEG

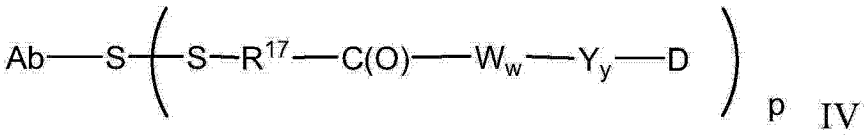
[1193] 另一种例示性式 III 延伸物单元，其中 R^{17} 为 $-(CH_2)_5-$：

[1194]



[1195] 在另一个实施方案中，延伸物单元通过抗体的改造半胱氨酸的硫原子与延伸物单元的硫原子之间的二硫键与半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体连接。该实施方案的代表性延伸物单元以式 IV 描绘，其中 R^{17}、Ab-、-W-、-Y-、-D、w 和 y 如上文所定义。

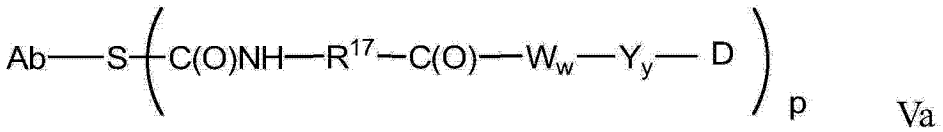
[1196]



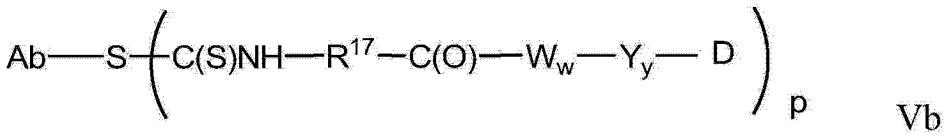
IV

[1197] 在又一个实施方案中，延伸物的反应性基团含有能与抗体的游离半胱氨酸硫醇形成键的硫醇反应性官能团。硫醇反应性官能团的例子包括但不限于：马来酰亚胺；α - 卤代乙酰基；活化的酯类，诸如琥珀酰亚胺酯、4- 硝基苯基酯、五氟苯基酯、四氟苯基酯；酸酐类；酸性氯化物或酰基氯类 (acidchloride)；磺酰氯类；异氰酸酯类和异硫氰酸酯类。该实施方案的代表性延伸物单元以式 Va 和 Vb 描绘，其中 $-R^{17}-$、Ab-、-W-、-Y-、-D、w 和 y 如上文所定义。

[1198]



Va



Vb

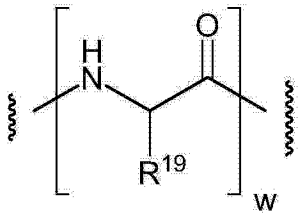
[1199] 在另一个实施方案中，接头可以为树状类型接头 (dendritic type linker)，其用于通过分支的多功能接头模块将超过一个药物模块共价附着于抗体 (Sun 等 (2002)Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters 12:2213-2215；Sun 等 (2003) Bioorganic&Medicinal Chemistry 11:1761-1768；King(2002)Tetrahedron Letters 43:1987-1990)。树状接头能增加药物与抗体的摩尔比，即载荷，它与 ADC 的效能相关。如此，如果半胱氨酸改造抗体仅携带一个反应性半胱氨酸硫醇基团，那么可以通过树状接头附着众多药物模块。

[1200] 氨基酸单元

[1201] 接头可以包含氨基酸残基。如果存在，那么氨基酸单元 (-W_w-) 使本发明的半胱氨酸改造抗体 - 药物偶联物 (ADC) 的抗体 (Ab) 与药物模块 (D) 连接。

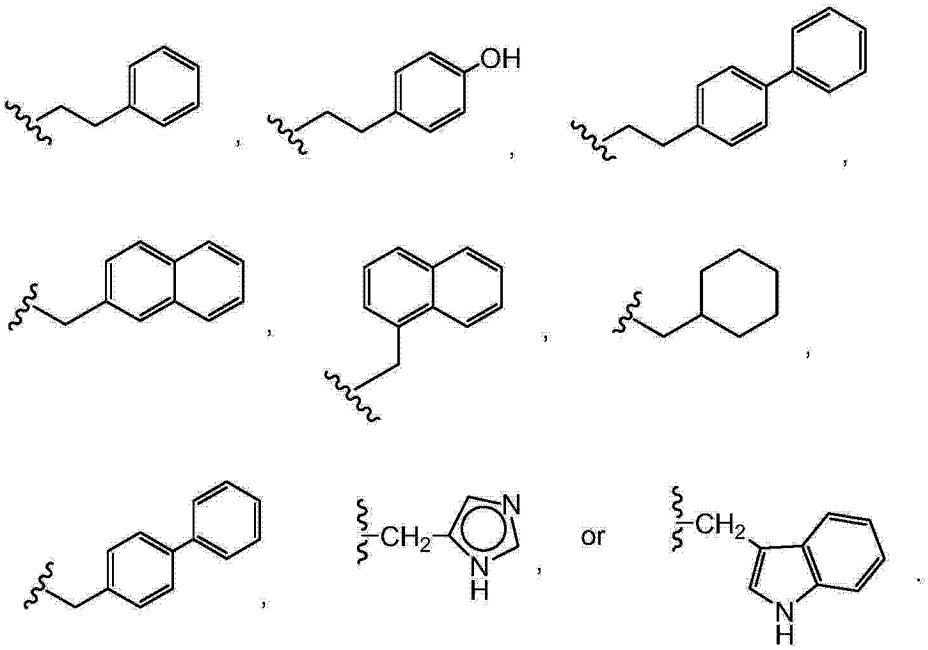
[1202] -W_w- 为二肽、三肽、四肽、五肽、六肽、七肽、八肽、九肽、十肽、十一肽或十二肽单元。包含氨基酸单元的氨基酸残基包括那些天然存在的以及次要的氨基酸和非天然存在的氨基酸类似物，诸如瓜氨酸。各个 -W- 单元独立地具有如下所示的方括号内的通式，且 w 为范围 0-12 的整数 ：

[1203]



[1204] 其中 R^{19} 为氢、甲基、异丙基、异丁基、仲丁基、苄基、对羟基苄基、$-CH_2OH$、$-CH(OH)CH_3$、$-CH_2CH_2SCH_3$、$-CH_2CONH_2$、$-CH_2COOH$、$-CH_2CH_2CONH_2$、$-CH_2CH_2COOH$、$-(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$、$-(CH_2)_3NH_2$、$-(CH_2)_3NHCOCH_3$、$-(CH_2)_3NHCHO$、$-(CH_2)_4NHC(=NH)NH_2$、$-(CH_2)_4NH_2$、$-(CH_2)_4NHCOCH_3$、$-(CH_2)_4NHCHO$、$-(CH_2)_3NHCONH_2$、$-(CH_2)_4NHCONH_2$、$-CH_2CH_2CH(OH)CH_2NH_2$、2- 吡啶基甲基 -、3- 吡啶基甲基 -、4- 吡啶基甲基 -、苯基、环己基、

[1205]



[1206] 当 R^{19} 不为氢时，R^{19} 所附着的碳原子为手性的。R^{19} 所附着的各个碳原子独立地以 (S) 或 (R) 构型或外消旋混合物附着。氨基酸单元如此可以为对映体方面纯的、外消旋的或非对映异构体的。

[1207] 例示性的 -W_w- 氨基酸单元包括二肽、三肽、四肽或五肽。例示性的二肽包括 ：缬氨酸 - 瓜氨酸 (vc 或 val-cit)、丙氨酸 - 苯丙氨酸 (af 或 ala-phe)。例示性的三肽包括 ：甘氨酸 - 缬氨酸 - 瓜氨酸 (gly-val-cit) 和甘氨酸 - 甘氨酸 - 甘氨酸 (gly-gly-gly)。构成氨基酸接头构件的氨基酸残基包括天然存在的氨基酸，以及次要氨基酸和非天然存在的氨基酸类似物，诸如瓜氨酸。

[1208] 可以用一种或多种酶（包括肿瘤相关蛋白酶）酶促切割氨基酸单元，以释放药物模块(-D)，其在一个实施方案中在体内释放时被质子化以提供药物(D)。可以在特定酶（例如肿瘤相关蛋白酶，组织蛋白酶B、C和D，或纤溶酶蛋白酶）的酶促切割的选择性方面设计和优化氨基酸接头构件。

[1209] 间隔物单元

[1210] 在氨基酸单元存在时(w = 1-12)，间隔物单元(-Y_y-)（在存在时，y = 1或2）使氨基酸单元(-W_w-)与药物模块(D)连接。或者，在氨基酸单元不存在时，间隔物单元使延伸物单元与药物模块连接。在氨基酸单元和延伸物单元都不存在时(w,y = 0)，间隔物单元还使药物模块与抗体单元连接。间隔物单元有两大类：自我牺牲的(self-immolative)和非自我牺牲的。非自我牺牲的间隔物单元为部分或所有间隔物单元在从抗体-药物偶联物或药物模块-接头切割（特别是酶促切割）氨基酸单元后保持与药物模块结合的间隔物单元。当含有甘氨酸-甘氨酸间隔物单元或甘氨酸间隔物单元的ADC通过肿瘤细胞相关蛋白酶、癌细胞相关蛋白酶或淋巴细胞相关蛋白酶进行酶促切割时，甘氨酸-甘氨酸-药物模块或甘氨酸-药物模块从Ab-A_a-Ww-上切割下来。在一个实施方案中，在靶细胞内发生独立的水解反应，其切割甘氨酸-药物模块的键并释放药物。

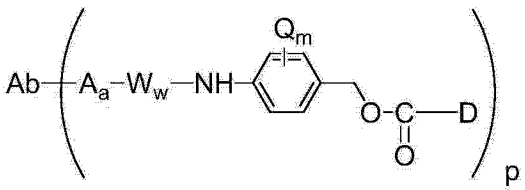
[1211] 在另一个实施方案中，-Y_y-为对氨基苄基氨甲酰基(PAB)单元，其亚苯基部分被Q_m取代，其中Q为-C_1-C_8烃基（烷基，alkyl）、-O-(C_1-C_8烃基（烷基，alkyl））、-卤素、-硝基或-氰基；且m为范围0-4的整数。

[1212] 非自我牺牲的间隔物单元(-Y-)的例示性实施方案为：-Gly-Gly-；-Gly-；-Ala-Phe-；-Val-Cit-。

[1213] 在一个实施方案中，提供了药物模块-接头或ADC或其药学可接受的盐或溶剂化物，其中间隔物单元不存在(y = 0)。

[1214] 或者，含有自我牺牲的间隔物单元的ADC能释放-D。在一个实施方案中，-Y-为通过PAB基团的氨基氮原子连接至-Ww-，且通过碳酸酯、氨基甲酸酯或醚基团直接连接至-D的PAB基团，其中ADC具有如下例示性结构：

[1215]



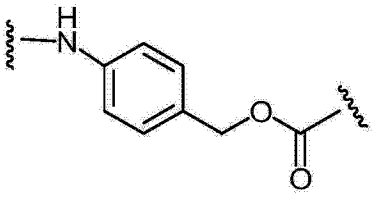
[1216] 其中Q为-C_1-C_8烃基（烷基，alkyl）、-O-(C_1-C_8烃基（烷基，alkyl））、-卤素、-硝基或-氰基；m为范围0-4的整数；且p范围为1-4。

[1217] 自我牺牲的间隔物的其它例子包括但不限于在电子方面与PAB基团类似的芳族化合物，诸如2-氨基咪唑-5-甲醇衍生物(Hay等(1999)Bioorg.Med.Chem.Lett.9:2237)、杂环PAB类似物(US 2005/0256030)、β-葡糖苷酸(WO 2007/011968)和邻位或对位氨基苄基乙缩醛。可以使用在酰胺键水解时进行环化的间隔物，诸如取代和未取代的4-氨基丁酸酰胺类(Rodrigues等(1995)Chemistry Biology 2:223)、适当取代的双环[2.2.1]和双环[2.2.2]环体系(Storm等(1972)J.Amer.Chem.Soc.94:5815)和2-氨基苯基丙酸酰胺类(Amsberry等(1990)J.Org.Chem.55:5867)。消去在甘氨酸上取代的含胺药物(Kingsbury

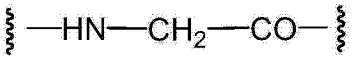
等 (1984)J.Med.Chem.27:1447) 也是可用于 ADC 的自我牺牲的间隔物的例子。

[1218] 例示性的间隔物单元 (-Y_y-) 以式 X-XII 表示 :

[1219]



X



XI



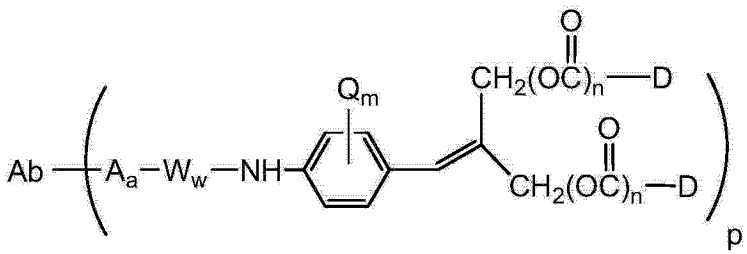
XII

[1220] 树状接头

[1221] 在另一个实施方案中,接头 L 可以为树状类型接头 (dendritic type linker),其用于通过分支的多功能接头模块将超过一个药物模块共价附着于抗体 (Sun 等 (2002)Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters 12:2213-2215 ;Sun 等 (2003)Bioorganic&Medicinal Chemistry 11:1761-1768)。树状接头能增加药物与抗体的摩尔比,即载荷,它与 ADC 的效能相关。如此,如果半胱氨酸改造抗体仅携带一个反应性半胱氨酸硫醇基团,那么可以通过树状接头附着众多药物模块。分支的树状接头的例示性实施方案包括 2,6- 双 (羟甲基)- 对甲酚和 2,4,6- 三 (羟甲基)- 酚树状聚物单元 (dendrimer unit)(WO 2004/01993 ;Szalai 等 (2003)J.Amer.Chem.Soc.125:15688-15689 ;Shamis 等 (2004)J.Amer.Chem.Soc.126:1726-1731 ;Amir 等 (2003)Angew.Chem.Int.Ed.42:4494-4499)。

[1222] 在一个实施方案中,间隔物单元为分支的双 (羟甲基) 苯乙烯 (BHMS),它可以用于掺入和释放众多药物,其具有如下结构 :

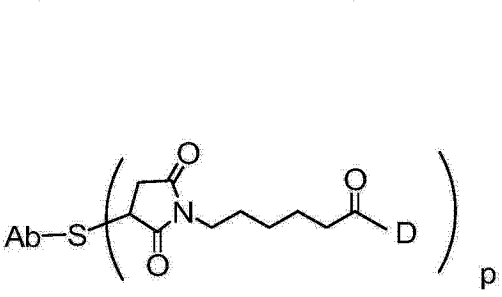
[1223]



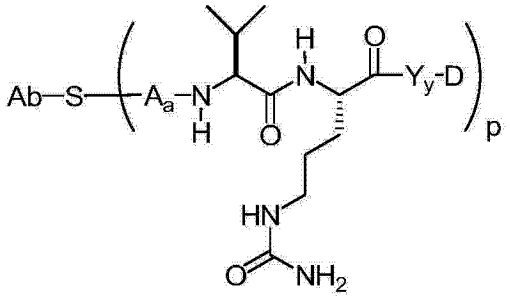
[1224] 其包含 2-(4- 氨基亚苄基) 丙烷 -1,3- 二醇树状聚物单元 (WO 2004/043493 ;de Groot 等 (2003)Angew.Chem.Int.Ed.42:4490-4494),其中 Q 为 -C_1-C_8 烃基 (烷基,alkyl),-O-(C_1-C_8 烃基 (烷基,alkyl))、- 卤素、- 硝基或 - 氰基 ;m 为范围 0-4 的整数 ;n 为 0 或 1 ;且 p 范围为 1-4。

[1225] 式 I 抗体 - 药物偶联物化合物的例示性实施方案包括 XIIIa(MC)、XIIIb(val-cit)、XIIIc(MC-val-cit) 和 XIIId(MC-val-cit-PAB) :

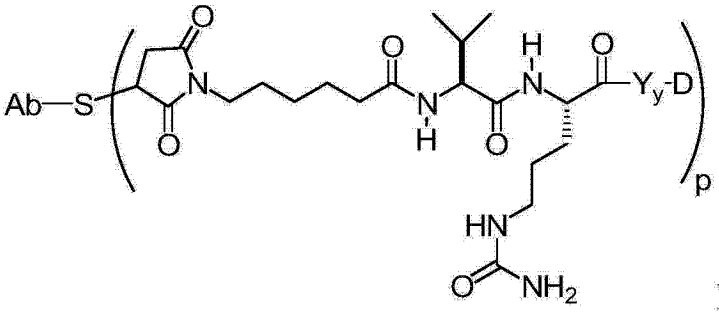
[1226]



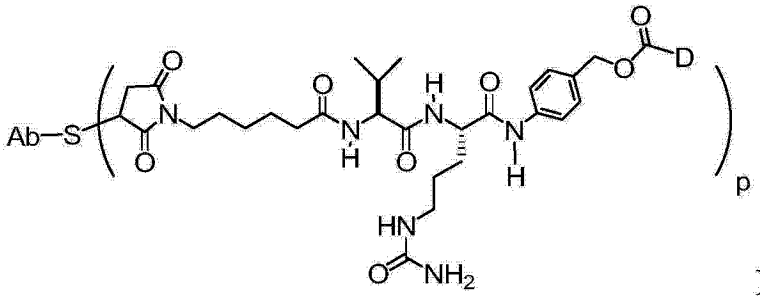
XIIIa



XIIIb



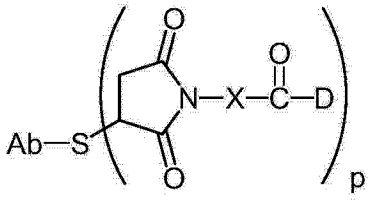
XIIIc



XIIId

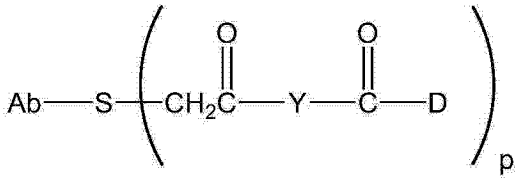
[1227] 式 Ia 抗体 - 药物偶联物化合物的其它例示性实施方案包括 XIVa-e:

[1228]

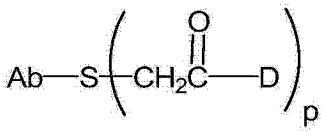


XIVa

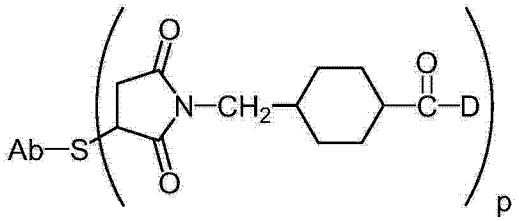
[1229]



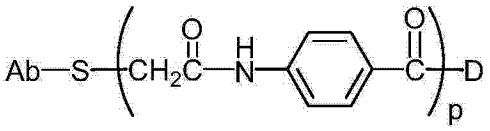
XIVb



XIVc



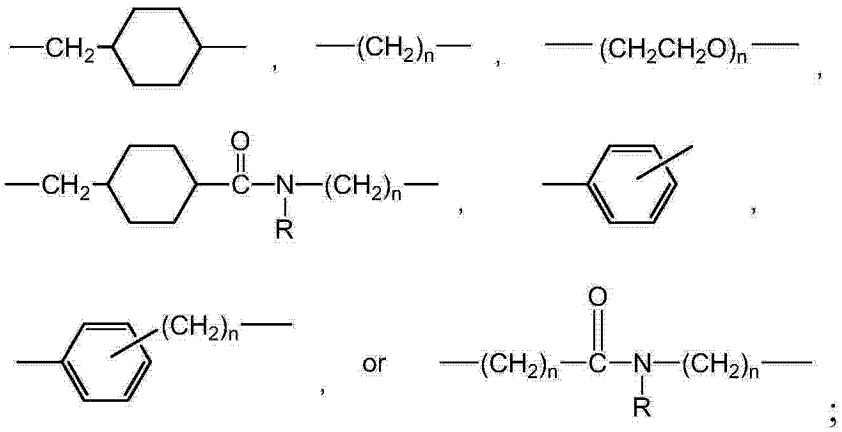
XIVd



XIVe

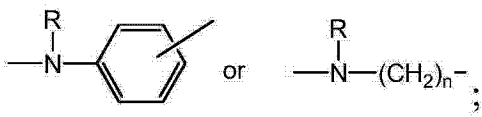
[1230] 其中 X 为：

[1231]



[1232] Y 为：

[1233]



[1234] 且 R 独立为 H 或 C_1-C_6 烃基（烷基，alkyl）；且 n 为 1-12。

[1235] 在另一个实施方案中，接头具有反应性官能团，该反应性官能团具有与存在于抗体上的亲电子基团具有反应性的亲核基团。抗体上有用的亲电子基团包括但不限于醛和酮羰基。接头的亲核基团的杂原子能与抗体上的亲电子基团反应并且与抗体单元形成共价键。接头上有用的亲核基团包括但不限于酰肼、肟、氨基、肼、缩氨基硫脲(thiosemicarbazone)、肼羧酸酯和芳基酰肼。抗体上的亲电子基团提供了用于附着接头的便利位点。

[1236] 典型地，可以通过在两个或更多氨基酸和 / 或肽片段之间形成肽键来制备肽类

型的接头。例如，可以按照肽化学领域众所周知的液相合成法（E. Schröder和K. Lübke (1965)“The Peptides”，卷1，pp 76-136，Academic Press）来制备此类肽键。可以通过包括间隔物、延伸物和氨基酸单元的反应的任意组合或顺序来装配接头中间体。间隔物、延伸物和氨基酸单元可以采用本质上为亲电子、亲核或游离基的反应性官能团。反应性官能团包括但不限于羧基、羟基、对硝基苯基碳酸根、异硫氰酸根和离去基团，诸如O-甲磺酰基、O-甲苯磺酰基、-Cl、-Br、-I；或马来酰亚胺。

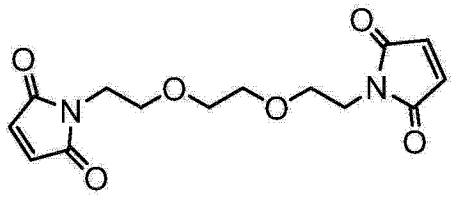
[1237] 例如，带电荷的取代基，诸如磺酸根（$-SO_3^-$）或铵可以增加试剂的水溶性并且有利于接头试剂与抗体或药物模块的偶联反应，或有利于Ab-L（抗体-接头中间体）与D的偶联反应或D-L（药物-接头中间体）与Ab的偶联反应，这取决于用于制备ADC的合成途径。

[1238] 接头试剂

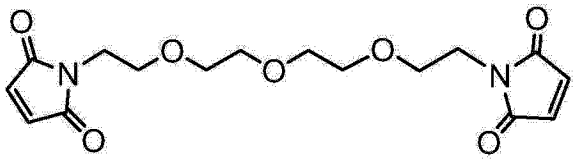
[1239] 可以使用多种双功能接头试剂来制备包含抗体和auristatin的偶联物，诸如N-琥珀酰亚氨基3-(2-吡啶基二硫代)丙酸酯(SPDP)，琥珀酰亚氨基-4-(N-马来酰亚氨基甲基)环己烷-1-羧酸酯(SMCC)，亚氨基硫烷(IT)，亚氨酸酯（诸如盐酸己二酰亚氨酸二甲酯）、活性酯类（诸如辛二酸二琥珀酰亚氨基酯）、醛类（诸如戊二醛）、双叠氮化合物（诸如双（对-叠氮苯甲酰基）己二胺）、双重氮衍生物（诸如双（对-重氮苯甲酰基）-乙二胺）、二异硫氰酸酯（诸如甲苯2,6-二异氰酸酯）和双活性氟化合物（诸如1,5-二氟-2,4-二硝基苯）的双功能衍生物。

[1240] 抗体药物偶联物还可以用下列接头试剂来制备：BMPEO、BMPS、EMCS、GMBS、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMPB、SMPH、sulfo-EMCS、sulfo-GMBS、sulfo-KMUS、sulfo-MBS、sulfo-SIAB、sulfo-SMCC和sulfo-SMPB、及SVSB（琥珀酰亚氨基-(4-乙烯基砜）苯甲酸酯）；并且包括双马来酰亚胺试剂：DTME、BMB、BMDB、BMH、BMOE、1,8-双-马来酰亚氨基二甘醇（$BM(PEO)_2$）和1,11-双-马来酰亚氨基三甘醇（$BM(PEO)_3$），它们可购自Pierce Biotechnology,Inc.、ThermoScientific(Rockford,IL)、及其它试剂供应商。双马来酰亚胺试剂容许将半胱氨酸改造抗体的硫醇基团按照依次或同时的方式附着至含硫醇药物模块、标记物或接头中间体。除马来酰亚胺外的其它与半胱氨酸改造抗体、药物模块、标记物或接头中间体的硫醇基团具有反应性的官能团包括碘乙酰胺、溴乙酰胺、乙烯基吡啶、二硫化物、吡啶基二硫化物、异氰酸根和异硫氰酸根。

[1241]



$BM(PEO)_2$

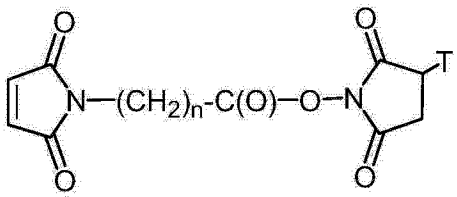


$BM(PEO)_3$

[1242] 还可以通过其它商业（诸如Molecular Biosciences Inc.(Boulder,CO)）来源获得或按照下列文献中所述的规程合成有用的接头试剂：Toki等(2002)J.Org.Chem.67:1866-1872；Walker,M.A.(1995)J.Org.Chem.60:5352-5355；Frisch等(1996)Bioconjugate Chem.7:180-186；US 6214345；WO 02/088172；US 2003130189；US2003096743；WO 03/026577；WO 03/043583；和WO 04/032828。

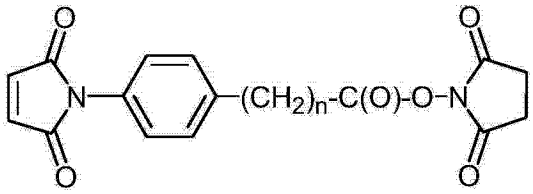
[1243] 可以通过使下列接头试剂与氨基酸单元的N-末端反应将式(IIIa)的延伸物引入接头：

[1244]



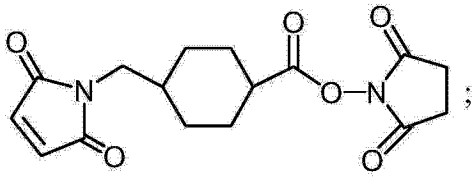
[1245] 其中n为范围1-10的整数且T为-H或$-SO_3Na$；

[1246]

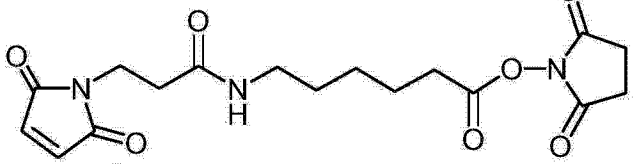


[1247] 其中n为范围0-3的整数；

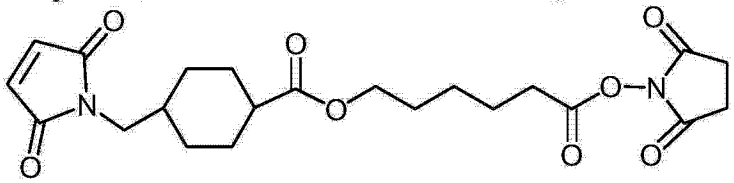
[1248]



;

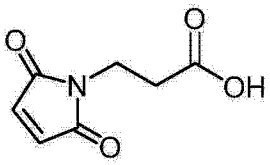


;



; and

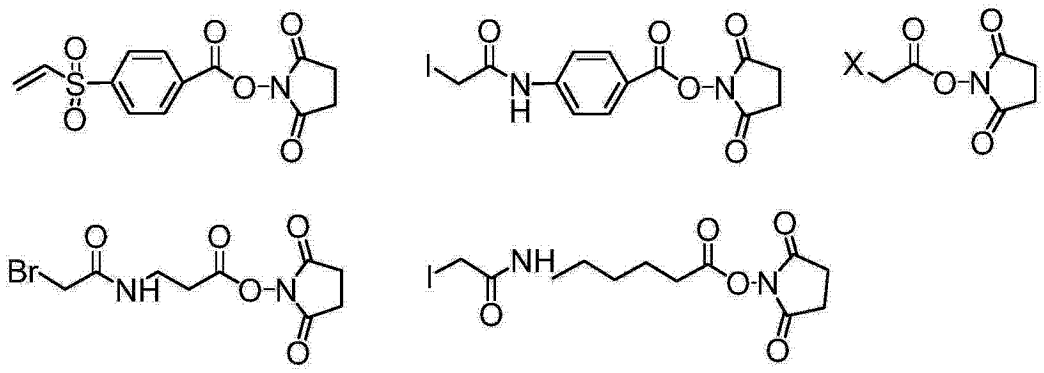
[1249]



.

[1250] 可以通过使下列双官能试剂与氨基酸单元的N-末端反应将延伸物单元引入接头：

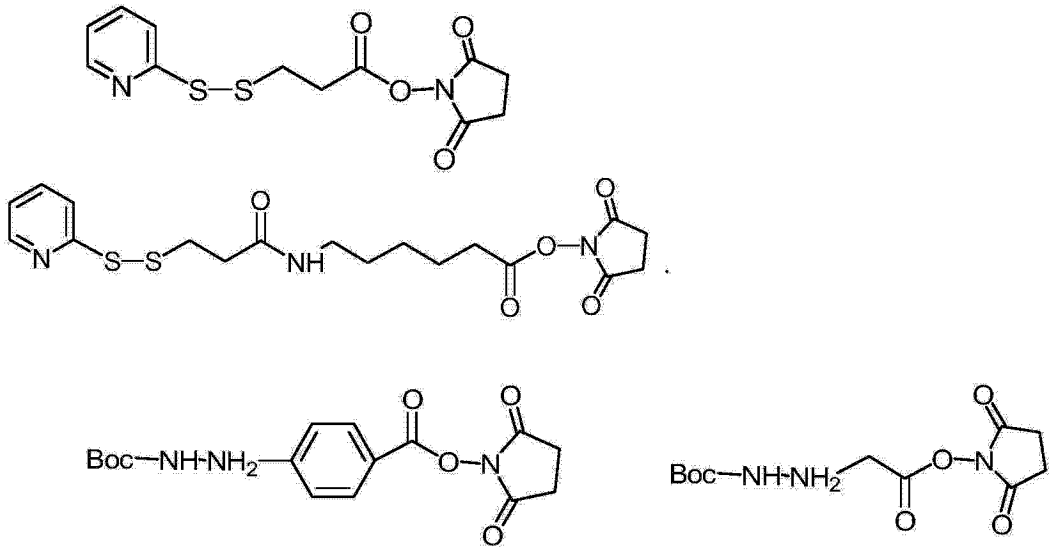
[1251]



[1252] 其中 X 为 Br 或 I。

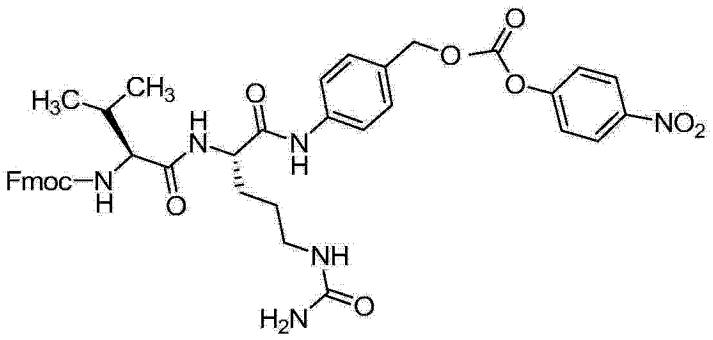
[1253] 还可以通过使下列双官能试剂与氨基酸单元的 N- 末端反应将式的延伸物单元引入接头：

[1254]



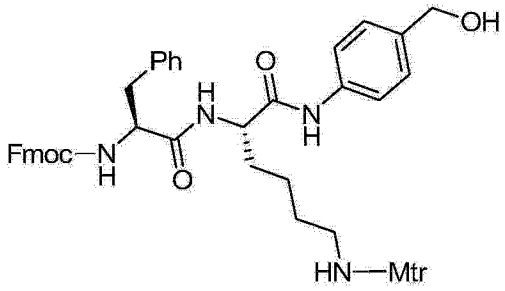
[1255] 具有马来酰亚胺延伸物和对氨基苄基氨甲酰基 (PAB) 自我牺牲间隔物的例示性缬氨酸 - 瓜氨酸 (val-cit 或 vc) 二肽接头试剂具有如下结构：

[1256]



[1257] 具有马来酰亚胺延伸物单元和 PAB 自我牺牲间隔物单元的例示性 phe-lys(Mtr，单 -4- 甲氧基三苯甲基）二肽接头试剂可以按照 Dubowchik 等 (1997)Tetrahedron Letters,38:5257-60 所述制备且具有如下结构：

[1258]



[1259] 半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体 - 药物偶联物的制备

[1260] 可以通过数种途径，采用本领域技术人员公知的有机化学反应、条件和试剂来制备式 I 的 ADC，包括：(1) 使半胱氨酸改造抗体的半胱氨酸基团与接头试剂反应，从而通过共价键形成抗体 - 接头中间体 Ab-L，随后与活化的药物模块 D 反应；和 (2) 使药物模块的亲核基团与接头试剂反应，从而通过共价键形成药物 - 接头中间体 D-L，随后与半胱氨酸改造抗体的半胱氨酸基团反应。偶联方法 (1) 和 (2) 可以与各种半胱氨酸改造抗体、药物模块和接头一起使用以制备式 I 的抗体 - 药物偶联物。

[1261] 抗体半胱氨酸硫醇基团为亲核性的并且能够与接头试剂和药物 - 接头中间体上的亲电子基团反应而形成共价键，所述亲电子基团包括：(i) 活性酯类，诸如 NHS 酯类、HOBt 酯类、卤代甲酸酯类和酸性氯化物类；(ii) 烃基和苄基卤化物，诸如卤代乙酰胺类；(iii) 醛类、酮类、羧基和马来酰亚胺基团；和 (iv) 通过硫化物交换的二硫化物，包括吡啶基二硫化物。药物模块上的亲核基团包括但不限于：胺、硫醇、羟基、酰肼、肟、肼、缩氨基硫脲、肼羧酸酯和芳基酰肼基团，它们能够与接头模块和接头试剂上的亲电子基团反应而形成共价键。

[1262] 可以如下使半胱氨酸改造抗体变成反应性的以便偶联接头试剂，即用还原剂，诸如 DTT(Cleland 氏试剂，二硫苏糖醇）或 TCEP（三 (2- 羧乙基）膦盐酸盐）处理 (Getz 等 (1999)Anal.Biochem.273:73-80；Soltec Ventures,Beverly,MA)，接着再氧化以再形成链间和链内二硫键（实施例 5)。例如，在 37℃用约 50 倍摩尔过量的 TCEP 将在 CHO 细胞中表达的全长半胱氨酸改造的单克隆抗体 (ThioMab) 还原 3 小时以还原半胱氨酸加合物中的二硫键，其可以在新引入的半胱氨酸残基与存在于培养基中的半胱氨酸之间形成。用 10mM 乙酸钠，pH 5 稀释还原后的 ThioMab 并且加载至 10mM 乙酸钠，pH 5 中的 HiTrap S 柱上并且用含有 0.3M 氯化钠的 PBS 洗脱。在室温用稀 (200nM) 硫酸铜 ($CuSO_4$) 水溶液重新建立亲本 Mab 中存在的半胱氨酸残基之间的二硫键过夜。或者，脱氢抗坏血酸 (DHAA) 是有效的氧化剂，用于在半胱氨酸加合物的还原性切割之后重新建立半胱氨酸改造抗体的链内二硫化物基团。可以使用本领域公知的其它氧化剂，即氧化性试剂和氧化性条件。环境空气氧化也是有效的。这种温和的部分再氧化步骤有效地高保真度地形成链内二硫键并保护新引入的半胱氨酸残基的硫醇基团。加入约 10 倍过量的药物 - 接头中间体，例如 MC-vc-PAB-MMAE，混合并且在室温放置约 1 小时，以进行偶联并形成抗 CD79b 抗体 - 药物偶联物。将偶联混合物进行凝胶过滤、加载和通过 HiTrap S 柱洗脱以除去过量的药物 - 接头中间体和其它杂质。

[1263] 附图 23 显示了制备由细胞培养物表达的用于偶联的半胱氨酸改造抗体的一般方法。当细胞培养基含有半胱氨酸时，可以在新引入的半胱氨酸氨基酸和培养基中的半胱氨酸之间形成二硫化物加合物。必须将这些半胱氨酸加合物（描绘为图 23 中的例示性

ThioMab(左)中的环)还原以生成具有偶联反应性的半胱氨酸改造抗体。将半胱氨酸加合物,可能还有多个链间二硫键用还原剂诸如 TCEP 还原性切割以产生还原形式的抗体。在部分氧化条件下,用硫酸铜、DHAA 或暴露于环境氧而重新形成配对半胱氨酸残基之间的链间二硫键。新引入的、改造的和未配对的半胱氨酸残基仍然可用于与接头试剂或药物 - 接头中间体反应而形成本发明的抗体偶联物。哺乳动物细胞系中表达的 ThioMabs 通过 -S-S- 键形成产生外部偶联至改造的 Cys 的 Cys 加合物。因此,纯化的 ThioMabs 如实施例 5 所述通过还原和再氧化规程处理以产生反应性 ThioMabs。这些 ThioMabs 用于偶联含有马来酰亚胺的细胞毒性药物、荧光团和其它标记物。

[1264] 10. 免疫脂质体

[1265] 本文中所公开的抗 CD79b 抗体还可配制成免疫脂质体。“脂质体”指由各种类型的脂质、磷脂和 / 或表面活性剂构成的,可用于对哺乳动物投递药物的小囊泡。脂质体的成分通常排列成双层形式,与生物膜的脂质排列相似。含有抗体的脂质体可通过本领域已知方法来制备,诸如 Epstein et al.,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 82:3688(1985) ;Hwang et al.,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:4030(1980) ;美国专利 4,485,045 和 4,544,545 ;及 1997 年 10 月 23 日公布的 WO97/38731。循环时间延长的脂质体披露于美国专利 5,013,556。

[1266] 可用包含磷脂酰胆碱、胆固醇和 PEG 衍生化磷脂酰乙醇胺 (PEG-PE) 的脂类组合物通过反相蒸发法生成特别有用的脂质体。将脂质体挤过具有设定孔径的滤器,产生具有期望直径的脂质体。可如 Martin et al.,J.Biol.Chem.257:286-288(1982) 中所述,将本发明抗体的 Fab' 片段经二硫化物交换反应与脂质体偶联。任选在脂质体中包含化疗剂。参见 Gabizon et al.,J.National Cancer Inst.81(19):1484(1989)。

[1267] B. 制备抗体的某些方法

[1268] 1. 筛选具有期望特性的抗 CD79b 抗体

[1269] 上文已经描述了用于生成与 CD79b 多肽结合的抗体的方法。可以根据需要进一步选择具有某些生物学特征的抗体。

[1270] 本发明抗 CD79b 抗体的生长抑制效果可通过本领域知道的方法来评估,例如使用内源性的或在用 CD79b 基因转染后表达 CD79b 多肽的细胞。例如,可将适宜肿瘤细胞系和 CD79b 转染细胞用多种浓度的本发明抗 CD79b 单克隆抗体处理数天(例如 2-7 天),并用结晶紫或 MTT 染色,或者通过一些其它比色测定法进行分析。测量增殖的另一种方法将是通过比较在存在或缺乏本发明抗 CD79b 抗体时处理的细胞的 ^{3}H- 胸苷摄取。处理后,收获细胞并在闪烁计数器中对掺入 DNA 的放射性的量定量。适宜的阳性对照包括用已知抑制选定细胞系生长的生长抑制性抗体处理该细胞系。可以本领域知道的多种方法来测定体内肿瘤细胞的生长抑制。所述肿瘤细胞可以是过表达 CD79b 多肽的肿瘤细胞。与未处理的肿瘤细胞相比,抗 CD79b 抗体会在体外或在体内抑制表达 CD79b 的肿瘤细胞的细胞增殖达约 25-100%,更优选约 30-100%,甚更优选约 50-100%或 70-100%,在一个实施方案中,抗体浓度为约 0.5-30 μg/ml。可在细胞培养物中在抗体浓度为约 0.5-30 μg/ml 或约 0.5nM 至 200nM 时测量生长抑制,其中在使肿瘤细胞暴露于抗体后 1-10 天测量生长抑制。如果以约 1 μg/kg 至约 100mg/kg 体重施用抗 CD79b 抗体导致在自首次施用抗体起约 5 天至 3 个月内、优选约 5 至 30 天内肿瘤体积缩小或肿瘤细胞增殖降低,那么该抗体是体内生长抑制性的。

[1271] 为了选择诱导细胞死亡的抗 CD79b 抗体，可相对于对照评估通过例如碘化丙啶(PI)、锥虫蓝或 7AAD 摄取显示的膜完整性丧失。PI 摄取测定法可在缺乏补体和免疫效应细胞时进行。在单独的培养基或含有适宜抗 CD79b 抗体（例如约 10μg/ml）的培养基中温育表达 CD79b 多肽的肿瘤细胞。将细胞温育 3 天的时限。每次处理后，将细胞清洗并等分到 35mm 盖有滤网 (strainer-capped) 的 12x 75 管中（每管 1ml，每个处理组 3 管）以除去细胞团块。然后向管中加入 PI(10μg/ml)。可以使用FACSCAN® 流式细胞仪和FACSCONVERT® CellQuest 软件 (Becton Dickinson) 分析样品。可以将那些根据 PI 摄取的测定诱导统计学显著水平的细胞死亡的抗 CD79b 抗体选作诱导细胞死亡的抗 CD79b 抗体。

[1272] 为了筛选结合 CD79b 多肽上目的抗体所结合的表位的抗体，可进行常规交叉阻断测定法，诸如 Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Ed Harlow and David Lane, 1988 中所记载的。此测定法可用于测定测试抗体是否与已知的抗 CD79b 抗体结合相同位点或表位。或者 / 另外，可通过本领域知道的方法进行表位作图。例如，可对抗体序列进行诱变，诸如通过丙氨酸扫描，以鉴定接触残基。首先对突变型抗体测试多克隆抗体的结合以确保正确折叠。在一种不同的方法中，可将对应于 CD79b 不同区域的肽与测试抗体或者与测试抗体及具有已表征或已知表位的抗体一起用于竞争测定法。

[1273] 2. 某些文库筛选方法

[1274] 本发明的抗 CD79b 抗体可以通过使用组合库筛选具有期望活性的抗体来生成。例如，本领域知道用于构建噬菌体展示库及对此类文库筛选具有期望的结合特性的抗体的多种方法。此类方法一般记载于 Hoogenboom 等 (2001) 于 :Methods in Molecular Biology 178:1-37(O'Brien 等编，Human Press, Totowa, NJ)，在某些实施方案中是 Lee 等 (2004) J.Mol.Biol.340:1073-1093。

[1275] 在原理上，通过筛选噬菌体文库来选择合成抗体克隆，所述噬菌体文库含有展示融合至噬菌体外壳蛋白的各种抗体可变区 (Fv) 片段的噬菌体。通过针对所需抗原的亲和层析来淘选此类噬菌体文库。表达能够结合所需抗原的 Fv 片段的克隆被吸附至抗原，从而与文库中不结合的克隆分开。然后将结合的克隆从抗原上洗脱，而且可以通过额外的抗原吸附 / 洗脱循环进一步富集。本发明的任何抗 CD79b 抗体可以如下获得，即设计合适的抗原筛选规程来选择感兴趣的噬菌体克隆，接着使用来自感兴趣的噬菌体克隆的 Fv 序列和 Kabat 等，Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第 5 版，NIH Publication 91-3242, Bethesda MD(1991)，卷 1-3 中记载的合适的恒定区 (Fc) 序列来构建全长抗 CD79b 抗体克隆。

[1276] 在某些实施方案中，抗体的抗原结合域由两个约 110 个氨基酸的可变 (V) 区形成，分别来自轻链 (VL) 和重链 (VH)，都呈现三个高变环 (HVR) 或互补决定区 (CDR)。可变域可以功能性的展示在噬菌体上，或是作为单链 Fv(scFv) 片段（其中 VH 和 VL 通过短的、柔性的接头共价相连），或者作为 Fab 片段（其中它们各自与恒定域融合且非共价相互作用），如 Winter 等，Ann.Rev.Immunol.，12:433-455(1994) 所述。在用于本文时，编码 scFv 的噬菌体克隆和编码 Fab 的噬菌体克隆统称为“Fv 噬菌体克隆”或“Fv 克隆”。

[1277] VH 和 VL 基因的全集可以通过聚合酶链式反应 (PCR) 分开克隆，并在噬菌体文库中随机重组，然后可以搜索抗原结合克隆，如 Winter 等，Ann.Rev.

Immunol.,12:433-455(1994) 所述。来自经免疫来源的文库提供对免疫原有高亲和力的抗体,无需构建杂交瘤。或者,可以克隆未免疫的全集,用于为广泛的非自身的及自身的抗原提供单一人抗体来源,无需任何免疫,如Griffiths等,EMBO J,12:725-734(1993) 所述。最后,未免疫的文库还可以以合成方式来构建,即从干细胞克隆未重排的V基因区段,并使用包含随机序列的PCR引物来编码高度可变的CDR3区及用来在体外实现重排,如Hoogenboom和Winter,J.Mol.Biol.,227:381-388(1992) 所述。

[1278] 在某些实施方案中,通过与次要外壳蛋白pIII融合,使用丝状噬菌体来展示抗体片段。抗体片段可以展示为单链Fv片段,其中VH与VL结构域通过柔性多肽间隔物在同一多肽链上相连,例如如Marks等,J.Mol.Biol.,222:581-597(1991) 所述,或者展示为Fab片段,其中一条链与pIII融合,另一条链分泌入细菌宿主细胞周质,在此装配Fab-外壳蛋白结构,其通过替换一些野生型外壳蛋白而展示在噬菌体表面上,例如如Hoogenboom等,Nucl.Acids Res.,19:4133-4137(1991) 所述。

[1279] 一般而言,从收获自人或动物的免疫细胞获得编码抗体基因片段的核酸。如果希望文库偏向抗CD79b克隆,那么可以给受试者免疫CD79b以产生抗体应答,并回收脾细胞和/或循环B细胞或其它外周血淋巴细胞(PBL)用于文库构建。在一个优选的实施方案中,如下得到了偏向抗CD79b克隆的人抗体基因片段文库,即在携带功能性人免疫球蛋白基因阵列(且缺乏功能性内源抗体生成系统)的转基因小鼠中产生抗CD79b抗体应答,使得CD79b免疫产生生成针对CD79b的人抗体的B细胞。生成人抗体的转基因小鼠的生成在下文中有描述。

[1280] 可以如下获得抗CD79b反应性细胞群的进一步富集,即使用合适的筛选规程来分离表达CD79b特异性膜结合抗体的B细胞,例如通过使用CD79b亲和层析进行的细胞分离或者细胞对荧光染料标记的CD79b的吸附及后续的荧光激活细胞分选(flow-activated cell sorting,FACS)。

[1281] 或者,来自未免疫供体的脾细胞和/或B细胞或其它PBL的使用提供了可能的抗体全集的更佳展现,而且还容许使用CD79b在其中没有抗原性的任何动物(人或非人的)物种构建抗体文库。对于构建体外掺入抗体基因的文库,从受试者收获干细胞以提供编码未重排抗体基因区段的核酸。可以从多种动物物种(诸如人、小鼠、大鼠、兔类、luprine、犬、猫、猪、牛、马和禽类物种等)获得感兴趣的免疫细胞。

[1282] 从感兴趣的细胞回收编码抗体可变基因区段(包括VH和VL区段)的核酸并扩增。就重排的VH和VL基因文库而言,可以如下获得所需DNA,即从淋巴细胞分离基因组DNA或mRNA,接着用与重排的VH和VL基因的5'和3'末端匹配的引物进行聚合酶链式反应(PCR),如Orlandi等,Proc.Natl.Acad.Sci.(USA),86:3833-3837(1989) 所述,由此构建多样性V基因全集供表达。可以从cDNA和基因组DNA扩增V基因,反向引物位于编码成熟V结构域的外显子的5'末端,正向引物基于J区段内部,如Orlandi等(1989) 和Ward等,Nature,341:544-546(1989) 所述。然而,为了从cDNA进行扩增,反向引物还可基于前导外显子内,如Jones等,Biotechnol.,9:88-89(1991) 所述,正向引物基于恒定区内,如Sastry等,Proc.Natl.Acad.Sci.(USA),86:5728-5732(1989) 所述。为了使互补性最大化,引物中可以掺入简并性,如Orlandi等(1989) 或Sastry等(1989) 所述。在某些实施方案中,如下将文库多样性最大化,即使用靶向每个V基因家

族的PCR引物来扩增免疫细胞核酸样品中存在的所有可获得的VH和VL重排，例如如Marks等，J.Mol.Biol.，222:581-597(1991)的方法中所述或Orum等，Nucleic Acids Res.，21:4491-4498(1993)的方法中所述。为了将所扩增的DNA克隆入表达载体，可以在PCR引物的一端引入罕见的限制性位点作为标签，如Orlandi等(1989)所述，或者用带标签的引物进行进一步的PCR扩增，如Clackson等，Nature,352:624-628(1991)所述。

[1283] 合成重排的V基因全集可以在体外从V基因区段衍生。大多数人VH基因区段已经克隆和测序(Tomlinson等，J.Mol.Biol.，227:776-798(1992))，并定位(Matsuda等，Nature Genet.，3:88-94(1993))；这些克隆的区段(包括H1和H2环的所有主要构造)可用于生成多样性VH基因全集，用到编码序列和长度多样性的H3环的PCR引物，如Hoogenboom和Winter,J.Mol.Biol.，227:381-388(1992)所述。VH全集还可如下生成，所有序列多样性集中于单一长度的长H3环，如Barbas等，Proc.Natl.Acad.Sci.USA,89:4457-4461(1992)所述。人Vκ和Vλ区段已经克隆和测序(Williams和Winter,Eur.J.Immunol.，23:1456-1461(1993))，而且可用于生成合成轻链全集。基于一系列VH和VL折叠结构及L3和H3长度的合成V基因全集将编码具有可观结构多样性的抗体。扩增编码V基因的DNA后，依照Hoogenboom和Winter,J.Mol.Biol.，227:381-388(1992)的方法，可以在体外重排种系V基因区段。

[1284] 抗体片段全集可以如下构建，即以数种方式将VH与VL基因全集联合在一起。可以在不同载体中创建各个全集，并在体外重组载体，例如如Hogrefe等，Gene,128:119-126(1993)所述，或者在体内通过组合感染来重组载体，例如Waterhouse等，Nucl.Acids Res.，21:2265-2266(1993)中记载的loxP系统。体内重组方法利用Fab片段的双链性质来克服因大肠杆菌转化效率施加的库容量限制。分开克隆未免疫的VH和VL全集，一个克隆入噬菌粒，另一个克隆入噬菌体载体。然后通过用噬菌体感染含噬菌粒的细菌使得每个细胞包含一种不同组合来联合两个文库，库容量只受细胞存在数的限制(约10^{12}个克隆)。两种载体都包含体内重组信号，使得VH与VL基因重组到单一复制子上，并共包装成噬菌体病毒粒。这些巨型文库提供了大量的具有优良亲和力(K_d^{-1}为约10^{-8}M)的多样性抗体。

[1285] 或者，可以将全集序贯克隆入同一载体，例如如Barbas等，Proc.Natl.Acad.Sci.USA,88:7978-7982(1991)所述，或者通过PCR装配到一起，然后克隆，例如如Clackson等，Nature,352:624-628(1991)所述。PCR装配还可用于将VH和VL DNA与编码柔性肽间隔物的DNA连接以形成单链Fv(scFv)全集。在另一种技术中，“细胞内PCR装配”用于通过PCR在淋巴细胞内联合VH与VL基因，然后克隆所接头因的全集，如Embleton等，Nucl.Acids Res.，20:3831-3837(1992)所述。

[1286] 未免疫文库(天然的或合成的)生成的抗体可具有中等亲和力(K_d^{-1}为约10^6-10^7M^{-1})，但还可以如下在体外模拟亲和力成熟，即构建次生文库并再次选择，如Winter等(1994)，见上文所述。例如，在Hawkins等，J.Mol.Biol.，226:889-896(1992)的方法或Gram等，Proc.Natl.Acad.Sci USA,89:3576-3580(1992)的方法中，使用易错聚合酶在体外随机引入突变(Leung等，Technique,1:11-15(1989))。另外，可以通过随机突变一个或多个CDR来进行亲和力成熟，例如在选定的个别Fv克隆中使用携带跨越感兴趣CDR的随机序列的引物进行PCR并筛选更高亲和力的克隆。WO 9607754(公布于1996

年 3 月 14 日）记载了用于在免疫球蛋白轻链的互补决定区中诱导诱变以创建轻链基因文库的方法。另一种高效方法是将通过噬菌体展示选出的 VH 或 VL 结构域与得自未免疫供体的天然存在 V 结构域变体全集重组，并在数轮链改组中筛选更高亲和力，如 Marks 等，Biotechnol.，10:779-783(1992) 所述。此技术容许生成亲和力约 10^{-9}M 或更低的抗体和抗体片段。

[1287] 文库的筛选可通过本领域已知的多种技术来实现。例如，CD79b 可用于包被吸附板的孔，在附着至吸附板的宿主细胞上表达，或用于细胞分选，或者偶联至生物素以用链霉亲合素包被的珠捕捉，或者用于淘选噬菌体展示库的任何其它方法。

[1288] 在适于至少部分噬菌体颗粒结合吸附剂的条件下，使噬菌体文库样品接触固定化的 CD79b。正常情况下，选择包括 pH、离子强度、温度等等的条件来模拟生理学条件。结合至固相的噬菌体进行清洗，然后用酸洗脱，例如如 Barbas 等，Proc.Natl.Acad.Sci USA,88:7978-7982(1991) 所述，或者用碱洗脱，例如如 Marks 等，J.Mol.Biol.,222:581-597(1991) 所述，或者通过 CD79b 抗原竞争洗脱，例如在与 Clackson 等，Nature,352:624-628(1991) 的抗原竞争法类似的规程中。噬菌体在单轮选择中可以富集 20-1,000 倍。此外，富集的噬菌体可以在细菌培养物中进行培养，并进行更多轮选择。

[1289] 选择的效率取决于许多因素，包括清洗过程中解离的动力学，及单个噬菌体上的多个抗体片段是否能同时结合抗原。具有较快解离动力学（和弱结合亲和力）的抗体可以通过使用短时间的清洗、多价噬菌体展示、及固相中的高抗原包被密度来保留。高密度不仅通过多价相互作用而稳定了噬菌体，而且有利于已解离的噬菌体的再结合。具有较慢解离动力学（和强结合亲和力）的抗体的选择可以通过使用长时间的清洗和单价噬菌体展示（如 Bass 等，Proteins,8:309-314(1990) 和 WO 92/09690 所述）及低抗原包被密度（如 Marks 等，Biotechnol.,10:779-783(1992) 所述）来促进。

[1290] 有可能在对 CD79b 具有不同亲和力的噬菌体抗体之间进行选择，甚至是亲和力略有差异的。然而，选定抗体的随机突变（例如如有些亲和力成熟技术中所进行的）有可能产生许多突变体，多数结合抗原，少数具有更高的亲和力。通过限制 CD79b，罕见的高亲和力噬菌体能竞争胜出。为了保留所有较高亲和力的突变体，可以将噬菌体与过量的生物素化 CD79b 一起温育，但是生物素化 CD79b 的浓度以摩尔计低于 CD79b 的目标摩尔亲和常数。然后可以用链霉亲合素包被的顺磁珠捕捉高亲和力的结合噬菌体。此类“平衡捕捉”容许依照结合亲和力来选择抗体，其灵敏性容许从大大过量的低亲和力噬菌体中分离出亲和力只有原值 2 倍的突变体克隆。还可以操作用于清洗结合至固相的噬菌体的条件来进行基于解离动力学的区分。

[1291] 抗 CD79b 克隆可以基于活性进行选择。在某些实施方案中，本发明提供了结合天然表达 CD79b 的活细胞的抗 CD79b 抗体。在一个实施方案中，本发明提供了阻断 CD79b 配体与 CD79b 之间的结合但不阻断 CD79b 配体与第二蛋白质之间的结合的抗 CD79b 抗体。对应于此类抗 CD79b 抗体的 Fv 克隆可以如下选出：(1) 如上所述从噬菌体文库分离抗 CD79b 克隆，并任选通过在合适的细菌宿主中培养所分离的噬菌体克隆群来扩增该群体；(2) 选出分别想要阻断和不阻断其活性的第二蛋白质和 CD79b；(3) 使抗 CD79b 噬菌体克隆吸附至固定化的 CD79b；(4) 使用过量的第二蛋白质来洗脱任何不想要的、识别 CD79b 结合决定簇（其与第二蛋白质的结合决定簇交叠或共享）的克隆；并 (5) 洗脱在步骤 (4) 后仍然吸附

的克隆。任选的是，具有期望的阻断 / 不阻断特性的克隆可以通过一次或多次重复本文所述选择规程来进一步富集。

[1292] 编码本发明杂交瘤衍生单克隆抗体或噬菌体展示 Fv 克隆的 DNA 易于使用常规规程分离和测序（例如通过使用设计成自杂交瘤或噬菌体 DNA 模板特异性扩增感兴趣的重链和轻链编码区的寡核苷酸引物）。一旦分离，可将 DNA 置于表达载体中，然后将该表达载体转染入原本不生成免疫球蛋白蛋白质的宿主细胞，诸如大肠杆菌细胞、猿 COS 细胞、中国仓鼠卵巢 (CHO) 细胞或骨髓瘤细胞，以在重组宿主细胞中获得所需单克隆抗体的合成。关于编码抗体的 DNA 在细菌中的重组表达的综述性论文包括 Skerra 等，Curr. Opinion in Immunol.，5:256(1993) 及 Pluckthun, Immunol. Revs, 130:151(1992)。

[1293] 编码本发明 Fv 克隆的 DNA 可以联合编码重链和 / 或轻链恒定区的已知 DNA 序列（例如适宜的 DNA 序列可得自 Kabat 等，见上文）以形成编码全长或部分长度重链和 / 或轻链的克隆。应当领会，任何同种型的恒定区都可用于此目的，包括 IgG、IgM、IgA、IgD 和 IgE 恒定区，而且此类恒定区可以得自任何人或动物物种。衍生自一种动物（诸如人）物种的可变域 DNA，然后与另一动物物种的恒定区 DNA 融合以形成“杂合的”全长重链和 / 或轻链的编码序列的 Fv 克隆包括在本文所用“嵌合”和“杂合”抗体的定义中。在某些实施方案中，衍生自人可变 DNA 的 Fv 克隆与人恒定区 DNA 融合以形成全长或部分长度人重链和 / 或轻链的编码序列。

[1294] 还可以修饰编码衍生自杂交瘤的抗 CD79b 抗体的 DNA，例如通过替代，即用人重链和轻链恒定域的编码序列替换衍生自杂交瘤克隆的同源鼠序列（例如如 Morrison 等，Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855(1984) 中的方法）。可以进一步修饰编码杂交瘤或 Fv 克隆衍生抗体或片段的 DNA，通过共价连接免疫球蛋白编码序列和非免疫球蛋白多肽的整个或部分编码序列。可以以该方式制备具有本发明的 Fv 克隆或杂交瘤克隆衍生抗体的结合特异性的“嵌合”或“杂合”抗体。

[1295] C. 依赖抗体的酶介导的前体药物疗法 (ADEPT)

[1296] 通过将抗体与前体药物活化酶偶联，本发明的抗体还可用于 ADEPT，所述前体药物活化酶将前体药物（例如肽基化疗剂，参见 WO 81/01145）转变为活性抗癌药。参见例如 WO 88/07378 和美国专利 4,975,278。

[1297] 可用于 ADEPT 的免疫偶联物的酶组分包括能够以这样一种方式作用于前体药物从而将其转变为更有活性的细胞毒性形式的任何酶。

[1298] 可用于本发明方法的酶包括但不限于可将含磷酸盐 / 酯的前体药物转变为游离药物的碱性磷酸酶；可将含硫酸盐 / 酯的前体药物转变为游离药物的芳基硫酸酯酶；可将无毒 5- 氟胞嘧啶转变为抗癌药 5- 氟尿嘧啶的胞嘧啶脱氨酶；可将含肽的前体药物转变为游离药物的蛋白酶，诸如沙雷氏菌蛋白酶 (serratiaprotease)、嗜热菌蛋白酶 (thermolysin)、枯草杆菌蛋白酶 (subtilisin)、羧肽酶和组织蛋白酶（诸如组织蛋白酶 B 和 L）；可转化含 D- 氨基酸替代的前体药物的 D- 丙氨酰羧肽酶；可将糖基化前体药物转变为游离药物的碳水化合物切割酶，诸如 β- 半乳糖苷酶和神经氨酸酶；可将用 β- 内酰胺衍生的药物转变为游离药物的 β- 内酰胺酶；及可将在其氨基氮处分别用苯氧乙酰基或苯乙酰基衍生的药物转变成游离药物的青霉素酰胺酶，诸如青霉素 V 酰胺酶或青霉素 G 酰胺酶。或者，可使用具有酶活性的抗体，本领域也称作“抗体酶”，将本发明的前体药物转变为游离

活性药物（参见例如 Massey, Nature 328:457-458(1987)）。可如本文所述制备抗体-抗体酶偶联物，用于将抗体酶递送至肿瘤细胞群。

[1299] 可通过本领域众所周知的技术将本发明的酶与抗 CD79b 抗体共价结合，诸如使用上文所讨论的异双功能交联剂。或者，可使用本领域众所周知的重组 DNA 技术构建包含与本发明酶的至少功能活性部分连接的本发明抗体的至少抗原结合区的融合蛋白（参见例如 Neuberger 等，Nature 312:604-608(1984)）。

[1300] D. 抗 CD79b 抗体

[1301] 除了本文所述抗 CD79b 抗体，可制备抗 CD79b 抗体变体。抗 CD79b 抗体可通过将适宜的核苷酸改变引入编码 DNA 和 / 或通过合成期望抗体或多肽来制备。本领域技术人员将领会，氨基酸改变可改变抗 CD79b 抗体的翻译后加工，诸如改变糖基化位点的数目或位置或者改变膜锚定特征。

[1302] 可在本文所述抗 CD79b 抗体中进行变异，例如使用例如美国专利 5,364,934 所述的保守和非保守突变的任何技术和指导方针。变异可以是编码抗体或多肽的一个或多个密码子的替代、删除或插入，其导致氨基酸序列相对于天然序列抗体的改变。任选的是，变异是通过抗 CD79b 抗体的一个或多个结构域中至少一个氨基酸为任何其它氨基酸所替代。通过比较抗 CD79b 抗体的序列与同源已知蛋白质分子的序列，并将高同源区中进行的氨基酸序列改变的数目最少化，可发现确定哪些氨基酸残基可插入、替代或删除而不会对期望活性有不利影响的方针。氨基酸替代可以是将一种氨基酸用具有相似结构和 / 或化学特性的另一种氨基酸替代的结果，诸如用丝氨酸替代亮氨酸，即保守氨基酸替代。插入或删除可任选在约 1 个至 5 个氨基酸的范围内。可通过在序列中系统进行氨基酸插入、替代或删除，并对所得变体测试由全长或成熟天然序列展示的活性来确定可容许的变异。

[1303] 本文提供了抗 CD79b 抗体片段。例如，在与全长天然抗体或蛋白质比较时，此类片段可在 N- 末端或 C- 末端截短，或者可缺少内部残基。某些片段缺少对于抗 CD79b 抗体的期望生物学活性不是至关重要的氨基酸残基。

[1304] 抗 CD79b 抗体可通过多种常规技术中的任一种来制备。期望肽片段可化学合成。一种备选方法牵涉通过酶促消化产生抗体或多肽片段，例如通过用已知在由特定氨基酸残基限定的位点处切割蛋白质的酶处理蛋白质，或者通过用合适的限制酶消化 DNA，并分离期望片段。还有一种合适的技术牵涉分离并通过聚合酶链式反应 (PCR) 扩增编码期望抗体或多肽片段的 DNA 片段。限定 DNA 片段期望末端的寡核苷酸在 PCR 中用作 5' 和 3' 引物。优选的是，抗 CD79b 抗体片段与本文所公开的天然抗 CD79b 抗体共享至少一种生物学和 / 或免疫学活性。

[1305] 在具体实施方案中，感兴趣的保守替代见表 8 标题“优选替代”下所示。如果此类替代导致生物学活性的改变，那么可引入表 8 中称为“例示替代”的更实质性改变，或者如下文关于氨基酸类别进一步所述的，并筛选产物。

[1306] 表 8

[1307]

原始残基	例示替代	优选替代
Ala(A)	val; leu; ile	val
Arg(R)	lys; gln; asn	lys
Asn(N)	gln; his; asp; lys; arg	gln
Asp(D)	glu; asn	glu
Cys(C)	ser; ala	ser
Gln(Q)	asn; glu	asn
Glu(E)	asp; gln	asp
Gly(G)	pro; ala	ala
His(H)	asn; gln; lys; arg	arg
Ile(I)	leu; val; met; ala; phe; 正亮氨酸	leu
Leu(L)	正亮氨酸; ile; val; met; ala; phe	ile
Lys(K)	arg; gln; asn	arg
Met(M)	leu; phe; ile	leu
Phe(F)	trp; leu; val; ile; ala; tyr	leu
Pro(P)	ala	ala
Ser(S)	thr	thr
Thr(T)	val; ser	ser
Trp(W)	tyr; phe	tyr
Tyr(Y)	trp; phe; thr; ser	phe
Val(V)	ile; leu; met; phe; ala; 正亮氨酸	leu

[1308] 对抗 CD79b 抗体的功能或免疫学身份的实质性修饰通过选择在保持以下方面的效果上显著不同的替代来完成：(a) 替代区域的多肽主链的结构，例如作为折叠片或螺旋构象，(b) 靶位点处分子的电荷或疏水性，或 (c) 侧链的体积。根据共同的侧链特性，天然存在残基可如下分组：

[1309] (1) 疏水性的：正亮氨酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile；

[1310] (2) 中性、亲水性的：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；

[1311] (3) 酸性的：Asp、Glu；

[1312] (4) 碱性的：His、Lys、Arg；

[1313] (5) 影响侧链取向的残基：Gly、Pro；和

[1314] (6) 芳香族的：Trp、Tyr、Phe。

[1315] 非保守替代将需要用这些类别之一中的一个成员交换另一个类别的。还可以将此类替代残基引入保守替代位点，或者更优选的是，引入剩余的（非保守）位点。

[1316] 变异可使用本领域知道的方法来进行，诸如寡核苷酸介导的（定点）诱变、丙氨酸扫描、及 PCR 诱变。可对克隆的 DNA 进行定点诱变 (Carter 等，Nucl. Acids Res. 13:4331(1986)；Zoller 等，Nucl. Acids Res. 10:6487(1987))、盒式诱变 (Wells 等，Gene 34:315(1985))、限制性选择诱变 (restriction selection mutagenesis) (Wells 等，Philos. Trans. R. Soc. London SerA 317:415(1986)) 或其它已知技术以产生抗 CD79b 抗体变体 DNA。

[1317] 还可采用扫描氨基酸分析来鉴定沿着连续序列的一个或多个氨基酸。在优选的扫描用氨基酸中有相对较小的中性氨基酸。此类氨基酸包括丙氨酸、甘氨酸、丝氨酸和半胱氨酸。丙氨酸通常是这组中的优选扫描用氨基酸，因为它消除了 β - 碳上的侧链，而且不大可能改变变体的主链构象 (Cunningham 和 Wells, Science 244:1081-1085(1989))。丙氨酸通常也是优选的，因为它是最常见的氨基酸。另外，常常在隐蔽位置和暴露位置都能发现它 (Creighton, The Proteins, W. H. Freeman&Co., N. Y.；Chothia, J. Mol. Biol. 150:1(1976))。如果丙氨酸替代不产生足够量的变体，那么可使用等排 (isoteric) 氨基酸。

[1318] 任何不涉及保持抗 CD79b 抗体正确构象的半胱氨酸残基也可被替代，通常用丝氨酸，以改进分子的氧化稳定性和防止异常交联。相反，可向抗 CD79b 抗体中添加半胱氨酸键以改善其稳定性（特别是当抗体是抗体片段诸如 Fv 片段时）。

[1319] 特别优选的一类替代变体牵涉替代亲本抗体的一个或多个高变区残基（例如人源化或人抗体）。通常，选择用于进一步开发的所得变体相对于产生它们的亲本抗体将具有改进的生物学特性。产生此类替代变体的一种便利方法牵涉使用噬菌体展示进行的亲和力成熟。简而言之，将数个高变区位点（例如 6-7 个位点）突变，在各个位点产生所有可能的氨基酸替代。如此产生的抗体变体以单价形式展示在丝状噬菌体颗粒上，作为与各个颗粒内包装的 M13 基因 III 产物的融合物。然后如本文所公开的对噬菌体展示的变体筛选其生物学活性（例如结合亲和力）。为了鉴定用于修饰的候选高变区位点，可进行丙氨酸扫描诱变以鉴定对抗原结合有重要贡献的高变区残基。或者 / 另外，分析抗原 - 抗体复合物的晶体结构以鉴定抗体和 CD79b 多肽之间的接触点可能是有益的。此类接触残基及邻近残基是依照本文详述技术进行替代的候选位点。一旦产生此类变体，如本文所述对该组变体进行筛选，可选择在一种或多种相关测定法中有优良特性的抗体用于进一步的开发。

[1320] 编码抗 CD79b 抗体的氨基酸序列变体的核酸分子可通过本领域已知的多种方法来制备。这些方法包括但不限于从天然来源分离（在天然存在氨基酸序列变体的情况中），或者通过对早期制备的变体或非变体形式的抗 CD79b 抗体进行寡核苷酸介导的（或定点）诱变、PCR 诱变和盒式诱变来制备。

[1321] E. 对抗 CD79b 抗体的修饰

[1322] 对抗 CD79b 抗体的共价修饰包括在本发明的范围内。一种类型的共价修饰包括使抗 CD79b 抗体的靶氨基酸残基与有机衍生化试剂反应，该有机衍生化试剂能够与抗 CD79b 抗体的选定侧链或者 N- 或 C- 末端残基起反应。用双功能试剂进行的衍生化可用于例如使抗 CD79b 抗体与不溶于水的支持基质或表面交联，以用于抗 CD79b 抗体的纯化方法，反之亦然。常用的交联剂包括例如 1,1- 双（重氮 - 乙酰基）-2- 苯乙烷、戊二醛、N- 羟基琥珀酰亚胺酯例如与 4- 叠氮水杨酸形成的酯、同双功能亚氨酸酯包括二琥珀酰亚胺酯诸如 3,3'- 二硫代双（琥珀酰亚氨基丙酸酯）、双功能马来酰亚胺诸如双 -N- 马来酰亚胺 -1,8- 辛烷和诸

如甲基 -3-[(对 - 叠氮苯基) 二硫代] 丙酰亚胺酯等试剂。

[1323] 其它修饰包括谷氨酰胺酰和天冬酰胺酰残基分别脱酰胺为谷氨酰和天冬氨酰残基，脯氨酸和赖氨酸的羟基化，丝氨酰或苏氨酰残基的羟基的磷酸化，赖氨酸、精氨酸和组氨酸侧链的 α - 氨基的甲基化 (T.E.Creighton,Proteins:Structure and Molecular Properties,W.H.Freeman&Co.,San Francisco,pp.79-86(1983))，N- 末端胺的乙酰化，及任何 C- 末端羧基的酰胺化。

[1324] 本发明范围内所包括的对抗 CD79b 抗体的另一类共价修饰包括改变抗体或多肽的天然糖基化样式。“改变天然糖基化样式”在本文中意图指删除一个或多个在天然序列抗 CD79b 抗体中发现的碳水化合物模块 (moiety)(或是通过消除潜在糖基化位点，或是通过以化学和 / 或酶促手段删除糖基化)，和 / 或添加一个或多个在天然序列抗 CD79b 抗体中不存在的糖基化位点。另外，此短语包括天然蛋白质糖基化中的质的改变，牵涉所存在的多种碳水化合物模块的本质和比例的改变。

[1325] 抗体和其它多肽的糖基化通常或是 N- 连接的或是 O- 连接的。N- 连接指碳水化合物模块附着于天冬酰胺残基的侧链。三肽序列天冬酰胺 -X- 丝氨酸和天冬酰胺 -X- 苏氨酸 (其中 X 是除脯氨酸外的任何氨基酸) 是将碳水化合物模块酶促附着于天冬酰胺侧链的识别序列。由此，多肽中这些三肽序列其中任一的存在产生潜在的糖基化位点。O- 连接的糖基化指将糖类 N- 乙酰半乳糖胺、半乳糖或木糖之一附着于羟基氨基酸，最常见的是丝氨酸或苏氨酸，但也可使用 5- 羟脯氨酸或 5- 羟赖氨酸。

[1326] 向抗 CD79b 抗体中添加糖基化位点通过改变氨基酸序列使其包含一个或多个上述三肽序列而便利地完成 (用于 N- 连接的糖基化位点)。这种改变还可通过向原始抗 CD79b 抗体的序列中添加或替代一个或多个丝氨酸或苏氨酸残基来进行 (用于 O- 连接的糖基化位点)。可任选通过 DNA 水平的变化来改变抗 CD79b 抗体的氨基酸序列，特别是通过在预先选择的碱基处突变编码抗 CD79b 抗体的 DNA，从而产生将翻译成期望氨基酸的密码子。

[1327] 增加抗 CD79b 抗体上糖模块的数目的另一种方法是通过使糖苷与多肽化学或酶促偶联。本领域对此类方法有描述，例如 1987 年 9 月 11 日公开的 WO 87/05330，及 Aplin 和 Wriston,CRC Crit.Rev.Biochem.,pp.259-306(1981)。

[1328] 去除抗 CD79b 抗体上存在的糖模块可通过化学或酶促方法来实现，或者通过编码充当糖基化靶物的氨基酸残基的密码子的突变替代。化学脱糖基化技术是本领域已知的，而且描述于例如 Hakimuddin 等 ,Arch.Biochem.Biophys.259:52(1987) 和 Edge 等 ,Anal.Biochem.118:131(1981)。酶促切割多肽上的糖模块可通过使用多种内切和外切糖苷酶来实现，如 Thotakura 等 ,Meth.Enzvmol.138:350(1987) 所述。

[1329] 对抗 CD79b 抗体的另一类共价修饰包括，以美国专利 4,640,835 ;4,496,689 ;4,301,144 ;4,670,417 ;4,791,192 或 4,179,337 所述方式，将抗体与多种非蛋白质性质的聚合物之一连接，例如聚乙二醇 (PEG)、聚丙二醇或聚氧亚烷 (polyoxyalkylene)。抗体还可包载于例如通过凝聚技术或通过界面聚合制备的微胶囊中 (例如分别是羟甲基纤维素或明胶微胶囊和聚 (甲基丙烯酸甲酯) 微胶囊)、在胶状药物递送系统中 (例如脂质体、清蛋白微球体、微乳剂、纳米颗粒和纳米胶囊) 或在粗滴乳状液中。此类技术公开于例如 Remington's Pharmaceutical Sciences,16th edition,Osol,A.Ed.,1980。

[1330] 还可以形成嵌合分子的方式修饰本发明的抗 CD79b 抗体，所述嵌合分子包含与另

一种异源多肽或氨基酸序列融合的抗 CD79b 抗体。

[1331] 在一个实施方案中，此类嵌合分子包括带有标签多肽的抗 CD79b 抗体的融合物，所述标签多肽提供了抗标签抗体可选择性结合的表位。表位标签通常位于抗 CD79b 抗体的氨基或羧基末端。此类表位标记形式的抗 CD79b 抗体的存在可使用针对所述标签多肽的抗体来检测。而且，表位标签的提供使抗 CD79b 抗体易于使用抗标签抗体或另一类结合所述表位标签的亲和基质通过亲和纯化来纯化。多种标签多肽及其各自抗体是本领域公知的。例子包括多组氨酸 (poly-his) 或多 - 组氨酸 - 甘氨酸 (poly-his-gly) 标签；流感 HA 标签多肽及其抗体 12CA5(Field 等，Mol. Cell. Biol. 8:2159-2165(1988))；c-myc 标签及其抗体 8F9, 3C7, 6E10, G4, B7 和 9E10 抗体 (Evan 等，Molecular and Cellular Biology 5:3610-3616(1985))；及单纯疱疹病毒糖蛋白 D(gD) 标签及其抗体 (Paborsky 等，Protein Engineering 3(6):547-553(1990))。其它标签多肽包括 Flag 肽 (Hopp 等，BioTechnology 6:1204-1210(1988))；KT3 表位肽 (Martin 等，Science 255:192-194(1992))；α - 微管蛋白表位肽 (Skinner 等，J. Biol. Chem. 266:15163-15166(1991))；及 T7 基因 10 蛋白肽标签 (Lutz-Freyermuth 等，Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:6393-6397(1990))。

[1332] 在一个备选实施方案中，嵌合分子可包括抗 CD79b 抗体与免疫球蛋白或免疫球蛋白特定区域的融合物。对于二价形式的嵌合分子（也称为“免疫粘附素”），此类融合物可以是与 IgG 分子 Fc 区的融合。Ig 融合物优选包含用可溶形式（跨膜结构域删除或失活）的抗 CD79b 抗体置换 Ig 分子内至少一个可变区的替代。在一个特别优选的实施方案中，免疫球蛋白融合物包含 IgG1 分子的铰链区、CH_2 区和 CH_3 区，或者铰链区、CH_1 区、CH_2 区和 CH_3 区。关于免疫球蛋白融合物的制备还可参见 1995 年 6 月 27 日授权的美国专利 5,428,130。

[1333] F. 抗 CD79b 抗体的制备

[1334] 下面的描述主要涉及通过培养用包含编码抗 CD79b 抗体的核酸的载体转化或转染的细胞来制备抗 CD79b 抗体。当然可采用本领域公知的备选方法来制备抗 CD79b 抗体。例如，可使用固相技术通过直接肽合成来生成适宜的氨基酸序列或其部分（参见例如 Stewart 等，Solid-Phase Peptide Synthesis, W. H. Freeman Co., San Francisco, CA, 1969；Merrifield, J. Am. Chem. Soc. 85:2149-2154(1963))。体外蛋白质合成可使用手工技术或通过自动化来进行。自动化合成可例如使用 Applied Biosystems Peptide Synthesizer(Foster City, CA) 依照制造商的说明书来完成。抗 CD79b 抗体的多个部分可分开化学合成，并使用化学或酶促方法组合以生成期望的抗 CD79b 抗体。

[1335] 1. 编码抗 CD79b 抗体的 DNA 的分离

[1336] 编码抗 CD79b 抗体的 DNA 可以从 cDNA 文库获得，所述 cDNA 文库从认为具有所述抗 CD79b 抗体 mRNA 且以可检测水平表达它的组织制备。因此，人的抗 CD79b 抗体 DNA 可以方便地从以人组织制备的 cDNA 文库获得。抗 CD79b 抗体编码基因也可从基因组文库或通过已知的合成流程（例如自动化核酸合成）获得。

[1337] 可以用设计用于鉴定目的基因或由其编码的蛋白质的探针（诸如至少约 20-80 个碱基的寡核苷酸）筛选文库。用选定探针筛选 cDNA 或基因组文库可使用标准流程进行，诸如 Sambrook 等，Molecular Cloning: A Laboratory Manual, New York, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989 所述。分离编码抗 CD79b 抗体的基因的一种备选方法是使用 PCR 方法学 (Sambrook 等，见上文；Dieffenbach 等，PCR Primer: A Laboratory Manual, Cold

Spring Harbor Laboratory Press, 1995)。

[1338] 用于筛选 cDNA 文库的技术是本领域公知的。选作探针的寡核苷酸序列应该足够长且足够明确 (unambiguous),使得假阳性降到最低。寡核苷酸优选是标记的,使得它在与所筛选文库中的 DNA 杂交时可检测出。标记方法是本领域公知的,包括使用放射标记物,像 ^{32}P-标记的 ATP、生物素化或酶标记。杂交条件,包括中等严格性和高度严格性,见 Sambrook 等,见上文。

[1339] 在此类文库筛选方法中鉴定的序列可以与保藏的和公共数据库诸如 GenBank 或其它私有序列数据库中可得到的其它已知序列比较和对比。所述分子限定区域内的或跨越全长序列的序列同一性(或是在氨基酸水平上或是在核苷酸水平上)可使用本领域知道的和本文描述的方法来测定。

[1340] 具有蛋白质编码序列的核酸可通过使用本文首次公开的推断的氨基酸序列筛选选定的 cDNA 或基因组文库来获得,并且必要时,使用 Sambrook 等,见上文所述常规引物延伸流程来检测可能不会逆转录为 cDNA 的 mRNA 的前体和加工的中间产物。

[1341] 2. 宿主细胞的选择和转化

[1342] 将宿主细胞用本文所述用于抗 CD79b 抗体生成的表达或克隆载体转染或转化,并在为了诱导启动子、选择转化子或扩增编码期望序列的基因而恰当调整的常规营养培养基中培养。培养条件,诸如培养基、温度、pH 等等,可以由本领域技术人员无需过多实验就选择。通常,用于使细胞培养物生产力最大化的原理、方案和实用技术可参见 Mammalian Cell Biotechnology:a Practical Approach, M. Butler, ed., IRL Press, 1991 和 Sambrook 等,见上文。

[1343] 真核细胞转染和原核细胞转化(即将 DNA 导入宿主中,使得 DNA 能够进行复制,或是作为染色体外元件或是通过染色体整合)的方法是普通技术人员所知道的,例如 $CaCl_2$、$CaPO_4$、脂质体介导的、聚乙二醇 /DMSO 和电穿孔。根据所用宿主细胞,转化使用对此类细胞适宜的标准技术进行。采用氯化钙的钙处理,如 Sambrook 等,见上文所述,或电穿孔通常用于原核细胞。用根瘤土壤杆菌 (Agrobacterium tumefaciens) 的感染用于某些植物细胞的转化,如 Shaw 等, Gene 23:315(1983) 和 1989 年 6 月 29 日公开的 WO 89/05859 所述。对于没有此类细胞壁的哺乳动物细胞,可采用 Graham 和 van der Eb, Virology 52:456-457(1978) 的磷酸钙沉淀法。哺乳动物细胞宿主系统转染的一般情况参见美国专利 4,399,216。进入酵母的转化通常依照 Van Solingen 等, J. Bact. 130:946(1977) 和 Hsiao 等, Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 76:3829(1979) 的方法来进行。然而,也可使用用于将 DNA 导入细胞的其它方法,诸如核显微注射、电穿孔、细菌原生质体与完整细胞的融合或聚阳离子例如 polybrene、聚鸟氨酸。关于用于转化哺乳动物细胞的多种技术见 Keown 等, Methods in Enzvmology 185:527-537(1990) 和 Mansour 等, Nature 336:348-352(1988)。

[1344] 适于克隆或表达本文载体中的 DNA 的宿主细胞包括原核生物、酵母或高等真核细胞。

[1345] a. 原核宿主细胞

[1346] 合适的原核生物包括但不限于古细菌和真细菌,诸如革兰氏阴性或革兰氏阳性生物体,例如肠杆菌科,诸如大肠杆菌。多种大肠杆菌菌株是公众可获得的,诸如大肠杆菌 K12 菌株 MM294(ATCC 31,446);大肠杆菌 X1776(ATCC 31,537);大肠杆菌菌株 W3110(ATCC

27,325) 和 K5772(ATCC53,635)。其它合适的原核生物宿主细胞包括肠杆菌科，诸如埃希氏菌属 (Escherichia) 例如大肠埃希氏菌 (大肠杆菌)(E.coli)、肠杆菌属 (Enterobacter)、欧文氏菌属 (Erwinia)、克雷伯氏菌属 (Klebsiella)、变形菌属 (Proteus)、沙门氏菌属 (Salmonella) 例如鼠伤寒沙门氏菌 (Salmonella typhimurium)、沙雷氏菌属 (Serratia) 例如粘质沙雷氏菌 (Serratia marcescans) 和志贺氏菌属 (Shigella)，以及芽孢杆菌属 (Bacilli) 诸如枯草芽孢杆菌 (B.subtilis) 和地衣芽孢杆菌 (B.licheniformis)(例如 1989 年 4 月 12 日出版的 DD266,710 中公开的地衣芽孢杆菌 41P)、假单胞菌属 (Pseudomonas) 诸如铜绿假单胞菌 (P.aeruginosa)、根瘤菌属 (Rhizobia)、透明颤菌属 (Vitreoscilla) 副球菌属 (Paracoccus) 和链霉菌属 (Streptomyces)。这些例子是例示性的而非限制性的。菌株 W3110 是一个特别优选的宿主或亲本宿主，因为它是用于重组 DNA 产物发酵的常用宿主菌株。优选的是，宿主细胞分泌最小量的蛋白水解酶。例如，菌株 W3110(Bachmann,Cellular and Molecular Biology,vol.2(Washington,D.C.:American Society for Microbiology,1987),pp.1190-1219 ;ATCC 保藏号 27,325) 可以修饰，在编码对宿主而言内源的蛋白质的基因中产生遗传突变，此类宿主的例子包括大肠杆菌 W3110 菌株 1A2，其具有完整基因型 tonA ；大肠杆菌 W3110 菌株 9E4，其具有完整基因型 tonA ptr3 ；大肠杆菌 W3110 菌株 27C7(ATCC 55,244)，其具有完整基因型 tonA ptr3phoA E15(argF-lac)169degP ompT kan^r ；大肠杆菌 W3110 菌株 37D6，其具有完整基因型 tonA ptr3phoA E15(argF-lac)169degP ompT rbs7ilvG kan^r ；大肠杆菌 W3110 菌株 40B4，它是具有非卡那霉素抗性 degP 删除突变的菌株 37D6 ；大肠杆菌 W3110 菌株 33D3，它具有基因型 W3110ΔfhuA(ΔtonA)ptr3lac Iq lacL8ΔompTΔ(nmpc-fepE)degP41kan^R(美国专利 No.5,639,635) ；及具有 1990 年 8 月 7 日授权的美国专利 4,946,783 中公开的突变型周质蛋白酶的大肠杆菌菌株。其它菌株及其衍生物，诸如大肠杆菌 294(ATCC 31,446)、大肠杆菌 B、大肠杆菌 λ1776(ATCC 31,537) 和大肠杆菌 RV308(ATCC 31,608) 也是合适的。这些例子只是例示而非限制。本领域知道用于构建具有指定基因型的任何上述细菌衍生物的方法，参见例如 Bass 等，Proteins 8:309-314(1990)。通常必需考虑复制子在细菌细胞中的可复制性来选择适宜的细菌。例如，在使用众所周知的质粒诸如 pBR322、pBR325、pACYC177 或 pKN410 来提供复制子时，大肠杆菌、沙雷氏菌属或沙门氏菌属物种可能适于用作宿主。通常，宿主细胞应当分泌最小量的蛋白水解酶，而且可能希望在细胞培养中掺入额外的蛋白酶抑制剂。或者，体外克隆方法，例如 PCR 或其它核酸聚合酶反应也是合适的。

[1347] 全长抗体、抗体片段及抗体融合物蛋白质可在细菌中制备，特别是在不需要糖基化和 Fc 效应器功能时，诸如当治疗用抗体与细胞毒剂 (例如毒素) 偶联且免疫偶联物自身显示出肿瘤细胞破坏的效力时。全长抗体在循环中具有较长半衰期。大肠杆菌中的制备更快且更加省钱。对于抗体片段和多肽在细菌中的表达，参见例如 US 5,648,237(Carter 等人)，US 5,789,199(Joly 等人)，和 US 5,840,523(Simmons 等人)，它们描述了用于优化表达和分泌的翻译起始区 (TIR) 和信号序列，在此收入这些专利作为参考。表达后，从大肠杆菌细胞糊在可溶性级分中分离抗体，并且可例如根据同种型通过蛋白 A 或 G 柱来纯化。最终的纯化可以与用于纯化例如在 CHO 细胞中表达的抗体的方法类似的进行。

[1348] b. 真核宿主细胞

[1349] 除了原核生物以外，真核微生物，诸如丝状真菌或酵母也是编码抗 CD79b 抗

体的载体的合适克隆或表达宿主。酿酒糖酵母(Saccharomyces cerevisiae)是常用的低等真核宿主微生物。其它的包括粟酒裂殖糖酵母(Schizosaccharomyces pombe)(Beach 和 Nurse,Nature 290:140(1981);EP 139,383,1985 年 5 月 2 日公开);克鲁维酵母属(Kluyveromyces)宿主(美国专利 4,943,529;Fleer 等,Bio/Technology 9:968-975(1991))诸如例如乳酸克鲁维酵母(K.lactis)(MW98-8C,CBS683,CBS4574;Louvencourt 等,J.Bacteriol.154(2):737-742(1983))、脆壁克鲁维酵母(K.fragilis)(ATCC 12,424)、保加利亚克鲁维酵母(K.bulgaricus)(ATCC 16,045)、威克克鲁维酵母(K.wickeramii)(ATCC 24,178)、K.waltii(ATCC 56,500)、果蝇克鲁维酵母(K.drosophilarum)(ATCC 36,906;Van den Berg 等,Bio/Technology 8:135(1990))、耐热克鲁维酵母(K.thermotolerans)和马克思克鲁维酵母(K.marxianus);亚罗酵母属(Yarrowia)(EP 402,226);巴斯德毕赤酵母(Pichia pastoris)(EP 183,070;Sreekrishna 等,J.Basic Microbiol.28:265-278(1988));假丝酵母属(Candida);瑞氏木霉(Trichoderma reesia)(EP 244,234);粗糙脉孢菌(Neurospora crassa)(Case 等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 76:5259-5263(1979));许旺酵母属(Schwanniomyces)诸如许旺酵母(Schwanniomyces occidentalis)(EP 394,538,1990 年 10 月 31 日公开);和丝状真菌诸如例如脉孢菌属(Neurospora)、青霉属(Penicillium)、弯颈霉属(Tolypocladium)(WO 91/00357,1991 年 1 月 10 日公开)和曲霉属(Aspergillus)宿主诸如构巢曲霉(A.nidulans)(Balance 等,Biochem.Biophys.Res.Commun.112:284-289(1983);Tilburn 等,Gene 26:205-221(1983);Yelton 等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 81:1470-1474(1984))和黑曲霉(A.niger)(Kelly 和 Hynes,EMBO J.4:475-479(1985))。甲基营养型酵母(Methylotropic yeast)适于本发明,包括但不限于能够在甲醇上生长的、选自以下属的酵母:汉逊氏酵母属(Hansenula)、假丝酵母属(Candida)、克勒克氏酵母属(Kloeckera)、毕赤氏酵母属(Pichia)、糖酵母属(Saccharomyces)、球拟酵母属(Torulopsis)和红酵母属(Rhodotorula)。作为这类酵母的例子的具体物种列表可参见 C.Anthony,The Biochemistry of Methylotrophs,269(1982)。

[1350] 适用于表达糖基化抗 CD79b 抗体的宿主细胞衍生自多细胞生物体。无脊椎动物细胞的例子包括昆虫细胞诸如果蝇 S2 和夜蛾 Sf9,以及植物细胞诸如棉、玉米、马铃薯、大豆、矮牵牛、番茄、烟草的细胞培养物。。已经鉴定了许多杆状病毒株和变体及相应的允许的昆虫宿主细胞,它们来自诸如草地夜蛾 Spodoptera frugiperda(毛虫)、埃及伊蚊 Aedes aegypti(蚊子)、白纹伊蚊 Aedes albopictus(蚊子)、黑腹果蝇 Drosophila melanogaster(果蝇)和家蚕 Bombyx mori 等宿主。公众可获得多种病毒株用于转染,例如苜蓿尺蠖(Autographa californica)NPV 的 L-1 变体和家蚕(Bombyx mori)NPV 的 Bm-5 株,而且此类病毒可依照本发明用作本文的病毒,特别是用于转染草地夜蛾细胞。

[1351] 然而,对脊椎动物细胞最感兴趣,而且通过培养(组织培养)脊椎动物细胞来繁殖已经成为常规流程。有用的哺乳动物宿主细胞系的例子是用 SV40 转化的猴肾 CV1 系(COS-7,ATCC CRL 1651);人胚肾系(293 或为了在悬浮培养中生长而亚克隆的 293 细胞,Graham 等,1977,J.Gen Virol.36:59);幼仓鼠肾细胞(BHK,ATCC CCL 10);中国仓鼠卵巢细胞 /-DHFR(CHO,Urlaub 等,1980,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:4216);小鼠塞托利(sertoli)细胞(TM4,Mather,1980,Biol.Reprod.23:243-251);猴肾细胞(CV1,ATCC CCL

70)；非洲绿猴肾细胞(VERO-76,ATCC CRL-1587)；人宫颈癌细胞(HELA,ATCC CCL 2)；犬肾细胞(MDCK,ATCC CCL 34)；牛鼠(buffalo rat)肝细胞(BRL 3A,ATCC CRL 1442)；人肺细胞(W138，ATCC CCL 75)；人肝细胞(Hep G2，HB 8065)；小鼠乳腺肿瘤(MMT 060562，ATCC CCL 51)；TRI细胞(Mather等,1982,Annals N.Y.Acad.Sci.383:44-68)；MRC5细胞；FS4细胞；和人肝肉瘤系(Hep G2)。

[1352] 用上述用于抗CD79b抗体生成的表达或克隆载体转化宿主细胞，并在为了诱导启动子、选择转化子或扩增编码期望序列的基因而恰当调整的常规营养培养基中培养。

[1353] 3.复制型载体的选择和使用

[1354] 为了重组生产本发明的抗体，分离编码它的核酸（例如cDNA或基因组DNA)，并将其插入可复制载体，用于进一步克隆(DNA扩增）或表达。可使用常规规程容易的分离编码抗体的DNA并测序（例如使用能够与编码抗体重链和轻链的基因特异性结合的寡核苷酸探针）。可利用许多载体。载体的选择部分取决于将要使用的宿主细胞。一般而言，优选的宿主细胞或是原核或是真核（通常是哺乳动物）起源的。

[1355] 载体可以是例如质粒、粘粒、病毒颗粒或噬菌体的形式。可以通过多种方法将适宜的核酸序列插入载体。通常，使用本领域已知的技术将DNA插入适宜的限制性内切酶位点。载体构件通常包括但不限于下列一种或多种：信号序列、复制起点、一种或多种标记基因、增强子元件、启动子和转录终止序列。包含一种或多种这些构件的合适载体的构建采用技术人员已知的标准连接技术。

[1356] CD79b不仅可以直接重组生产，而且可以作为与异源多肽的融合多肽，所述异源多肽可以是在成熟蛋白质或多肽的N-末端具有特定切割位点的信号序列或其它多肽。通常，信号序列可以是载体的构件，或者它可以是插入载体的编码抗CD79b抗体的DNA的一部分。信号序列可以是原核信号序列，选自例如碱性磷酸酶、青霉素酶、lpp或热稳定的肠毒素II前导序列。为了酵母分泌，信号序列可以是例如酵母转化酶前导序列、α因子前导序列（包括糖酵母和克鲁维酵母的α-因子前导序列，后者见美国专利5,010,182)或酸性磷酸酶前导序列、白色假丝酵母葡糖淀粉酶前导序列(1990年4月4日公开的EP 362,179)或1990年11月15日公开的WO 90/13646中描述的信号。在哺乳动物细胞表达中，可以使用哺乳动物信号序列来指导蛋白质的分泌，诸如来自相同或相关物种的分泌型多肽的信号序列，以及病毒分泌前导序列。

[1357] a.原核宿主细胞

[1358] 可使用标准重组技术来获得编码本发明抗体多肽构件的多核苷酸序列。可以从抗体生成细胞诸如杂交瘤细胞分离期望的多核苷酸序列并测序。或者，可使用核苷酸合成仪或PCR技术合成多核苷酸。一旦得到，将编码多肽的序列插入能够在原核宿主中复制并表达异源多核苷酸的重组载体。为了本发明目的，可使用本领域可获得的且知道的许多载体。适宜载体的选择会主要取决于将要插入载体的核酸的大小和将要用载体转化的具体宿主细胞。根据其功能（扩增或表达异源多核苷酸，或二者兼之）及其与它在其中驻留的具体宿主细胞的相容性，每种载体含有多种构件。

[1359] 一般而言，与宿主细胞一起使用包含衍生自与这些宿主相容物种的复制子和控制序列的质粒载体。表达和克隆载体都包含使载体能够在一种或多种所选择的宿主细胞中复制的核酸序列，以及能够在转化细胞中提供表型选择的标志序列。众所周知多种细菌、

酵母和病毒的此类序列。来自质粒 pBR322（其包含编码氨苄青霉素（Amp）和四环素（Tet）抗性的基因，由此提供轻松鉴定转化细胞的手段）的复制起点适合于大多数革兰氏阴性细菌，2μ 质粒起点适合于酵母，而各种病毒起点（SV40、多瘤病毒、腺病毒、VSV 或 BPV）可用于哺乳动物细胞中的克隆载体。pBR322、其衍生物或其它微生物质粒或噬菌体还可包含或经修饰而包含可被微生物生物体用于表达内源蛋白质的启动子。Carter 等，美国专利 No.5,648,237 中详细记载了用于表达特定抗体的 pBR322 衍生物的例子。

[1360] 另外，可以将包含与宿主微生物相容的复制子和控制序列的噬菌体载体用作这些宿主的转化载体。例如，可使用噬菌体诸如 λGEM.TM.-11 来构建可用于转化易感宿主细胞诸如大肠杆菌 LE392 的重组载体。

[1361] 本发明的表达载体可包含两种或更多启动子－顺反子对，它们编码每一种多肽构件。启动子是位于顺反子上游（5'）的非翻译调控序列，它调控顺反子的表达。原核启动子通常分成两类，诱导型的和组成性的。诱导型启动子指响应培养条件的变化（例如营养物的存在与否或温度变化）而启动受其控制的顺反子的升高水平转录的启动子。

[1362] 众所周知受到多种潜在宿主细胞识别的大量启动子。通过限制酶消化切下源 DNA 中的启动子并将分离的启动子序列插入本发明的载体，由此可以将选择的启动子与编码轻链或重链的顺反子 DNA 可操作连接。天然启动子序列和许多异源启动子都可用于指导靶基因的扩增和／或表达。在有些实施方案中，使用异源启动子，因为与天然靶多肽启动子相比，它们通常容许所表达靶基因的更高转录和更高产量。

[1363] 众所周知受到多种潜在宿主细胞识别的启动子。适用于原核宿主的启动子包括 PhoA 启动子、β－半乳糖苷酶和乳糖启动子系统 [Chang et al.,Nature,275:615(1978)；Goeddel et al.,Nature,281:544(1979)]、碱性磷酸酶、色氨酸（trp）启动子系统 [Goeddel,Nucleic Acids Res.,8:4057(1980)；EP 36,776] 和杂合启动子诸如 tac 或 trc 启动子。用于细菌系统的启动子还将包含与编码抗 CD79b 抗体的 DNA 可操作连接的 Shine-Dalgarno(S.D.) 序列。然而，在细菌中有功能的其它启动子（诸如其它已知的细菌或噬菌体启动子）也是合适的。它们的核苷酸序列已经发表，由此熟练工作人员能够使用提供任何所需限制性位点的接头或衔接头将它们与编码靶轻链和重链的顺反子可操作连接 (Siebenlist 等 (1980)Cell 20:269)。

[1364] 在本发明的一个方面，重组载体内的每个顺反子都包含指导所表达多肽穿膜转运的分泌信号序列构件。一般而言，信号序列可以是载体的构件，或者它可以是插入载体的靶多肽 DNA 的一部分。为了本发明目的而选择的信号序列应当是受到宿主细胞识别并加工（即被信号肽酶切除）的信号序列。对于不识别并加工异源多肽的天然信号序列的原核宿主细胞，将信号序列用选自例如下组的原核信号序列替代：碱性磷酸酶、青霉素酶、Ipp 或热稳定的肠毒素 II(STII) 前导序列、LamB、PhoE、PelB、OmpA 和 MBP。在本发明的一个实施方案中，表达系统的两个顺反子中都使用的信号序列是 STII 信号序列或其变体。

[1365] 在另一方面，依照本发明的免疫球蛋白的生成可以在宿主细胞的细胞质中发生，因此不需要在每个顺反子内存在分泌信号序列。在那点上，免疫球蛋白轻链和重链在细胞质内表达、折叠和装配而形成功能性免疫球蛋白。某些宿主菌株（例如大肠杆菌 trxB- 菌株）提供有利于二硫键形成的细胞质条件，从而容许所表达蛋白质亚基的正确折叠和装配。Proba 和 Pluckthun,Gene 159:203(1995)。

[1366] 本发明提供了如下表达系统，其中所表达多肽构件的数量比率可以受到调控，从而将分泌且正确装配的本发明抗体的产量最大化。此类调控是至少部分通过同时调控多肽构件的翻译强度而实现的。

[1367] Simmons 等，美国专利 No.5,840,523 中公开了用于调控翻译强度的一种技术。它在顺反子内利用翻译起始区 (TIR) 的变体。对于指定的 TIR，可创建具有一定范围翻译强度的一系列氨基酸或核酸序列变体，由此提供针对特定链的期望表达水平调节此因素的方便手段。可通过常规诱变技术导致能改变氨基酸序列的密码子变化来生成 TIR 变体，尽管核苷酸序列中的沉默变化是优选的。TIR 中的改变可包括例如 Shine-Dalgarno 序列的数目或间距的改变，及信号序列中的改变。用于生成突变型信号序列的一种方法是在编码序列的开始端生成不改变信号序列氨基酸序列的“密码子库”（即变化是沉默的）。这可通过改变每个密码子的第三个核苷酸位置来实现；另外，有些氨基酸，诸如亮氨酸、丝氨酸和精氨酸，具有多种第一个和第二个位置，这可在建库中增加复杂性。Yansura 等 (1992)METHODS:A Companion to Methods in Enzymol.4:151-158 中详细记载了这种诱变方法。

[1368] 优选的是，对于载体中的每个顺反子，生成具有一定范围 TIR 强度的一组载体。这个有限集合提供了每条链的表达水平以及期望抗体产物的产量在各种 TIR 强度组合下的比较。可通过量化报道基因的表达水平来测定 TIR 强度，Simmons 等，美国专利 No.5,840,523 中有详细描述。根据翻译强度的比较，选择期望的个别 TIR 在本发明的表达载体构建物中进行组合。

[1369] b. 真核宿主细胞

[1370] 载体构件通常包括但不限于下列一种或多种：信号序列、复制起点、一种或多种标志基因、增强子元件、启动子和转录终止序列。

[1371] (1) 信号序列构件

[1372] 在真核宿主细胞中使用的载体还可在感兴趣成熟蛋白质或多肽的 N 端包含信号序列或具有特异性切割位点的其它多肽。异源信号序列优选是受到宿主细胞识别并加工（即被信号肽酶切除）的。在哺乳动物细胞表达中，可利用哺乳动物信号序列以及病毒分泌前导，例如单纯疱疹 gD 信号。

[1373] 将此类前体区的 DNA 连接到编码抗体的 DNA 的读码框中。

[1374] (2) 复制起点

[1375] 通常，哺乳动物表达载体不需要复制起点构件。例如，通常可使用 SV40 起点，只因其包含早期启动子。

[1376] (3) 选择基因构件

[1377] 表达和克隆载体通常会包含选择基因，也称为选择标志。典型的选择基因编码如下蛋白质：(a) 赋予对抗生素或其它毒素的抗性，例如氨苄青霉素、新霉素、甲氨蝶呤或四环素；(b) 补足营养缺陷；或 (c) 提供不能从复合培养基获得的关键营养物，例如用于芽孢杆菌的编码 D- 丙氨酸消旋酶的基因。

[1378] 选择方案的一个例子利用药物来阻滞宿主细胞的生长。经异源基因成功转化的那些细胞生成赋予药物抗性的蛋白质，因而幸免于选择方案。此类显性选择的例子使用药物新霉素、霉酚酸和潮霉素。

[1379] 适于哺乳动物细胞的选择标志的一个例子是能够鉴定有能力摄取抗 CD79b 抗体

编码核酸的细胞的选择标志，诸如 DHFR 或胸苷激酶、金属硫蛋白 I 和 II（优选灵长类金属硫蛋白基因）、腺苷脱氨酶、鸟氨酸脱羧酶等。在采用野生型 DHFR 时，适宜的宿主细胞是 DHFR 活性缺陷的 CHO 细胞系（例如 ATCC CRL-9096），其制备和繁殖如 Urlaub 等，Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216(1980) 所述。例如，首先通过将所有转化子在含有甲氨蝶呤 (Mtx，DHFR 的一种竞争性拮抗剂）的培养基中进行培养来鉴定经 DHFR 选择基因转化的细胞。或者，可通过在含有针对选择标志的选择剂诸如氨基糖苷抗生素例如卡那霉素、新霉素或 G418 的培养基中培养细胞来选择经编码抗体、野生型 DHFR 蛋白和另一种选择标志诸如氨基糖苷 3'- 磷酸转移酶 (APH) 的 DNA 序列转化或共转化的宿主细胞（特别是包含内源 DHFR 的野生型宿主）。参见美国专利 No. 4,965,199。

[1380] 适用于酵母的选择基因是存在于酵母质粒 YRp7 中的 trp1 基因 [Stinchcomb et al., Nature, 282:39(1979) ; Kingsman et al., Gene, 7:141(1979) ; Tschemper et al., Gene, 10:157(1980)]。trp1 基因为缺乏在色氨酸中生长能力的酵母突变株，例如 ATCC No. 44076 或 PEP4-1[Jones, Genetics, 85:12(1977)] 提供了选择标志。Jones, Genetics 85:12(1977)。

[1381] (4) 启动子构件

[1382] 表达和克隆载体通常包含与编码抗 CD79b 抗体的核酸序列可操作连接的启动子以指导 mRNA 合成。受到多种潜在宿主细胞识别的启动子是众所周知的。

[1383] 事实上所有真核基因都具有富含 AT 区，它位于起始转录的位点上游约 25 至 30 个碱基处。在许多基因的转录起点上游 70 至 80 个碱基处发现的另一种序列是 CNCAAT 区，其中 N 可以是任何核苷酸。在大多数真核基因的 3' 端是 AATAAA 序列，它可能是向编码序列的 3' 端添加聚腺苷酸 (polyA) 尾的信号。将所有这些序列合适地插入真核表达载体。

[1384] 适用于酵母宿主的启动子序列的例子包括 3- 磷酸甘油酸激酶 (Hitzeman 等，J. Biol. Chem. 255:2073(1980)) 或其它糖酵解酶 (Hess 等，J. Adv. Enzyme Reg. 7:149(1968) ; Holland, Biochemistry 17:4900(1978)) 的启动子，诸如烯醇酶、甘油醛 -3- 磷酸脱氢酶、己糖激酶、丙酮酸脱羧酶、磷酸果糖激酶、葡萄糖 -6- 磷酸异构酶、3- 磷酸甘油酸变位酶、丙酮酸激酶、磷酸丙糖异构酶、磷酸葡萄糖异构酶和葡糖激酶。

[1385] 作为具有由生长条件控制转录的额外优点的诱导型启动子的其它酵母启动子是醇脱氢酶 2、异细胞色素 C、酸性磷酸酶、与氮代谢有关的降解酶、金属硫蛋白、甘油醛 -3- 磷酸脱氢酶、及负责麦芽糖和半乳糖利用的酶的启动子区。适用于酵母表达的载体和启动子进一步描述于 EP 73,657。

[1386] 在哺乳动物宿主细胞中由载体转录抗 CD79b 抗体受到例如从病毒（诸如多瘤病毒、禽痘病毒 (1989 年 7 月 5 日公布的 UK 2,211,504)、腺病毒（诸如 2 型腺病毒）、牛乳头瘤病毒、禽类肉瘤病毒、巨细胞病毒、逆转录病毒、乙肝病毒和猿病毒 40(SV40)) 基因组获得的、来自异源哺乳动物启动子（例如肌动蛋白启动子或免疫球蛋白启动子）的和来自热休克启动子的启动子的控制，倘若此类启动子与宿主细胞系统相容的话。

[1387] 方便的以 SV40 限制性片段的形式获得 SV40 病毒的早期和晚期启动子，该片段还包含 SV40 病毒复制起点。方便的以 HindIII E 限制性片段的形式获得人巨细胞病毒的立即早期启动子。美国专利 No. 4,419,446 中公开了使用牛乳头瘤病毒作为载体在哺乳动物宿主中表达 DNA 的系统。美国专利 No. 4,601,978 中记载了该系统的一种修改。还可参见

Reyes 等,Nature 297:598-601(1982),其记载了在小鼠细胞中在来自单纯疱疹病毒的胸苷激酶启动子的控制下表达人 β-干扰素 cDNA。或者,可使用劳氏肉瘤病毒长末端重复序列作为启动子。

[1388] (5) 增强子元件构件

[1389] 可通过在载体中插入增强子序列来提高高等真核细胞对编码抗 CD79b 抗体的 DNA 的转录。增强子是 DNA 的顺式作用元件,通常大约 10 至 300bp,作用于启动子以增加转录。已知来自哺乳动物基因(球蛋白、弹性蛋白酶、清蛋白、α-胎蛋白和胰岛素)的许多增强子序列。然而,通常使用来自真核细胞病毒的增强子。例子包括 SV40 复制起点晚期一侧的增强子 (bp100-270)、巨细胞病毒早期启动子增强子、多瘤病毒复制起点晚期一侧的增强子和腺病毒增强子。还可参见 Yaniv,Nature 297:17-18(1982),其记载了激活真核启动子的增强子元件。增强子可以剪接到载体中,位于抗 CD79b 抗体编码序列的 5’或 3’位置,但是优选位于启动子的 5’位点。

[1390] (6) 转录终止构件

[1391] 用于真核宿主细胞(酵母、真菌、昆虫、植物、动物、人或来自其它多细胞生物体的有核细胞)的表达载体还将包含终止转录和稳定 mRNA 所必需的序列。此类序列通常可以由真核或病毒 DNA 或 cDNA 非翻译区的 5’端和偶尔的 3’端获得。这些区域包含在编码抗 CD79b 抗体的 mRNA 的非翻译部分中转录成聚腺苷酸化片段的核苷酸区段。一种有用的转录终止构件是牛生长激素聚腺苷酸化区。参见 WO94/11026 及其中公开的表达载体。

[1392] 适合在改动后在重组脊椎动物细胞培养物中合成抗 CD79b 抗体的其它方法、载体和宿主细胞见 Gething 等,Nature 293:620-625(1981);Mantei 等,Nature 281:40-46(1979);EP 117,060;和 EP 117,058。

[1393] 4. 培养宿主细胞

[1394] 可以在多种培养基中培养用于生产本发明抗 CD79b 抗体的宿主细胞。

[1395] a. 原核宿主细胞

[1396] 在本领域知道的且适于培养选定宿主细胞的培养基中培养用于生成本发明多肽的原核细胞。合适培养基的例子包括添加了必需营养补充物的 LB 培养基 (Luria broth)。在有些实施方案中,培养基还含有根据表达载体的构建而选择的选择剂,以选择性容许包含表达载体的原核细胞生长。例如,向用于培养表达氨苄青霉素抗性基因的细胞的培养基中添加氨苄青霉素。

[1397] 在碳源、氮源和无机磷酸盐源以外,还可含有适当浓度的任何必需补充物,或是单独加入或是作为与另一种补充物或培养基的混合物,诸如复合氮源。任选的是,培养基可含有一种或多种选自下组的还原剂:谷胱甘肽、半胱氨酸、胱胺、巯基乙酸盐/酯、二硫赤藓糖醇和二硫苏糖醇。

[1398] 在合适的温度培养原核宿主细胞。例如,对于培养大肠杆菌,优选的温度范围为约 20℃至约 39℃,更优选约 25℃至约 37℃,甚至更优选约 30℃。主要取决于宿主生物体,培养基的 pH 可以是范围为约 5 至约 9 的任何 pH。对于大肠杆菌,pH 优选是约 6.8 至约 7.4,更优选约 7.0。

[1399] 如果本发明的表达载体中使用诱导型启动子,那么在适于激活启动子的条件下诱导蛋白质表达。在本发明的一个方面,使用 PhoA 启动子来控制多肽的转录。因此,为了

诱导，在磷酸盐限制培养基中培养经过转化的宿主细胞。优选的是，磷酸盐限制培养基是C.R.A.P培养基（参见例如Simmons等，J.Immunol.Methods 263:133-147(2002)）。根据所采用的载体构建物，可采用多种其它诱导物，正如本领域所知道的。

[1400] 在一个实施方案中，所表达的本发明多肽分泌入宿主细胞的周质并从中回收。蛋白质回收通常涉及破坏微生物，通常通过诸如渗压震扰(osmotic shock)、超声处理或裂解等手段。一旦细胞遭到破坏，可通过离心或过滤清除细胞碎片或整个细胞。可以通过例如亲和树脂层析进一步纯化蛋白质。或者，蛋白质可以转运入培养液并从中分离。可以从培养液清除细胞，并将培养物上清液过滤和浓缩，用于进一步纯化所生成蛋白质。可使用普遍知道的方法诸如聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)和Western印迹分析进一步分离和鉴定所表达多肽。

[1401] 在本发明的一个方面，通过发酵过程大量进行抗体生产。多种大规模补料-分批发酵规程可用于生产重组蛋白。大规模发酵具有至少1000升的容量，优选是约1,000至100,000升的容量。这些发酵罐使用搅拌器叶轮来分配氧和养分，尤其是葡萄糖（优选的碳源/能源）。小规模发酵通常指在体积容量不超过约100升的发酵罐中进行的发酵，范围可以是约1升至约100升。

[1402] 在发酵过程中，通常在将细胞在合适条件下培养至期望密度（例如OD550约180-220，在此阶段细胞处于早期稳定期）后启动蛋白质表达的诱导。根据所采用的载体构建物，可使用多种诱导物，正如本领域知道的和上文描述的。可以在诱导前将细胞培养更短的时间。通常将细胞诱导约12-50小时，但是可使用更长或更短的诱导时间。

[1403] 为了提高本发明多肽的产量和质量，可修改多项发酵条件。例如，为了改善所分泌抗体多肽的正确装配和折叠，可使用过表达伴侣蛋白诸如Dsb蛋白(DsbA、DsbB、DsbC、DsbD和/或DsbG)或FkpA(具有伴侣活性的一种肽基脯氨酰-顺式，反式-异构酶）的额外载体来共转化宿主原核细胞。已经证明伴侣蛋白促进在细菌宿主细胞中生成的异源蛋白质的正确折叠和溶解度。Chen等(1999)J.Bio.Chem.274:19601-19605；Georgiou等，美国专利No.6,083,715；Georgiou等，美国专利No.6,027,888；Bothmann和Pluckthun(2000)J.Biol.Chem.275:17100-17105；Ramm和Pluckthun(2000)J.Biol.Chem.275:17106-17113；Arie等(2001)Mol.Microbiol.39:199-210)。

[1404] 为了将所表达异源蛋白质（尤其是对蛋白水解敏感的异源蛋白质）的蛋白水解降至最低，可以将蛋白水解酶缺陷的某些宿主菌株用于本发明。例如，可修饰宿主细胞菌株，在编码已知细菌蛋白酶的基因中进行遗传突变，诸如蛋白酶III、OmpT、DegP、Tsp、蛋白酶I、蛋白酶Mi、蛋白酶V、蛋白酶VI及其组合。可以获得有些大肠杆菌蛋白酶缺陷菌株，参见例如Joly等(1998)见上文；Georgiou等，美国专利No.5,264,365；Georgiou等，美国专利No.5,508,192；Hara等，Microbial Drug Resistance 2:63-72(1996)。

[1405] 在一个实施方案中，在本发明的表达系统中使用蛋白水解酶缺陷且经过过表达一种或多种伴侣蛋白的质粒转化的大肠杆菌菌株作为宿主细胞。

[1406] b.真核宿主细胞

[1407] 商品化培养基诸如Ham氏F10(Sigma)、极限必需培养基(MEM,Sigma)、RPMI-1640(Sigma)和Dulbecco氏改良的Eagle氏培养基(DMEM,Sigma)适于培养宿主细胞。另外，可以使用下列文献中记载的任何培养基作为宿主细胞的培养基：Ham et

al.,Meth.Enz.58:44(1979);Barnes et al.,Anal.Biochem.102:255(1980);美国专利 No.4,767,704;4,657,866;4,927,762;4,560,655; 或 5,122,469;WO 90/03430;WO 87/00195;或美国专利复审 30,985。任何这些培养基可以根据需要补充激素和/或其它生长因子(诸如胰岛素、运铁蛋白或表皮生长因子)、盐(诸如氯化钠、钙、镁和磷酸盐)、缓冲剂(诸如 HEPES)、核苷酸(诸如腺苷和胸苷)、抗生素(诸如 GENTAMYCIN™ 药物)、痕量元素(定义为通常以微摩尔范围的终浓度存在的无机化合物)和葡萄糖或等效能源。还可以以适宜浓度包含本领域技术人员知道的任何其它必需补充物。培养条件,诸如温度、pH 等,就是先前为表达而选择用于宿主细胞的,这对于普通技术人员而言是显而易见的。

[1408] 5. 检测基因扩增/表达

[1409] 基因的扩增和/或表达可以在样品中直接测量,例如根据本文提供的序列,使用适宜的标记探针,通过常规的 Southern 印迹、对 mRNA 转录定量的 Northern 印迹(Thomas,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:5201-5205(1980))、点印迹(DNA 分析)或原位杂交。或者,可采用能识别特定双链体的抗体,所述双链体包括 DNA 双链体、RNA 双链体、及 DNA-RNA 杂合双链体或 DNA-蛋白质双链体。继而可标记抗体,并可进行测定法,其中将双链体结合到表面上,从而在双链体在表面上形成时,可检测与双链体结合的抗体的存在。

[1410] 或者,为了直接对基因产物的表达定量,可通过免疫学方法测量基因表达,诸如细胞或组织切片的免疫组化染色和细胞培养物或体液的测定法。可用于免疫组化染色和/或样品液体测定法的抗体可以是单克隆的或多克隆的,而且可以在任何哺乳动物中制备。方便的是,可针对天然序列 CD79b 多肽或针对基于本文提供的 DNA 序列的合成肽或针对与 CD79b DNA 融合且编码特定抗体表位的外源序列来制备抗体。

[1411] 6. 纯化抗 CD79b 抗体

[1412] 可以从培养液或从宿主细胞裂解物中回收各种形式的抗 CD79b 抗体。如果是膜结合的,那么可使用合适的去污剂溶液(例如 Triton-X 100)或通过酶促裂解使其从膜释放。抗 CD79b 抗体表达中所采用的细胞可通过多种物理或化学手段破裂,诸如冻融循环、超声处理、机械破裂或细胞溶解剂。

[1413] 可能期望从重组细胞蛋白质或多肽纯化抗 CD79b 抗体。下面的流程是合适纯化流程的例示:在离子交换柱上的分级;乙醇沉淀;反相 HPLC;在硅土或阳离子交换树脂诸如 DEAE 上的层析;层析聚焦;SDS-PAGE;硫酸铵沉淀;使用例如 Sephadex G-75 的凝胶过滤;蛋白 A Sepharose 柱以除去污染物诸如 IgG;及结合抗 CD79b 抗体的表位标记形式的金属螯合柱。可采用多种蛋白质纯化方法,此类方法是本领域已知的,并描述于例如 Deutscher,Methods in Enzymology,182(1990);Scopes,Protein Purification:Principes and Practice,Springer-Verlag,New York(1982)。纯化步骤的选择将取决于例如所用生成方法的性质和所产生的具体抗 CD79b 抗体。

[1414] 在使用重组技术时,可以在细胞内、在周质空间中生成抗体,或者直接分泌到培养基中。如果在细胞内生成抗体,那么作为第一步,通过例如离心或超滤清除宿主细胞或裂解片段的微粒碎片。Carter 等,Bio/Technology 10:163-167,1992 描述了用于分离分泌到大肠杆菌周质空间的抗体的流程。简单地说,在存在乙酸钠(pH 3.5)、EDTA 和苯甲基磺酰氟(PMSF)时使细胞糊融化约 30 分钟。可以通过离心除去细胞碎片。如果将抗体分泌到培养基中,那么通常首先使用商品化蛋白质浓缩滤器,例如 Amicon 或 Millipore Pellicon 超

滤单元浓缩来自此类表达系统的上清液。在任何上述步骤中，可以包括蛋白酶抑制剂诸如PMSF来抑制蛋白水解，而且可以包括抗生素来防止外来污染物的生长。

[1415] 可以使用例如羟磷灰石层析、凝胶电泳、透析和亲和层析来纯化由细胞制备的抗体组合物，优选的纯化技术是亲和层析。蛋白A作为亲和配体的适宜性取决于抗体中存在的任何免疫球蛋白Fc区的种类和同种型。蛋白A可用于纯化基于人γ1、γ2或γ4重链的抗体(Lindmark等，1983，J.Immunol.Meth.62:1-13)。蛋白G推荐用于所有小鼠同种型和人γ3(Guss等，1986，EMBO J.5:1567-1575)。亲和配体所附着的基质最常用的是琼脂糖，但是可以使用其它基质。物理稳定的基质诸如可控孔径玻璃或聚(苯乙烯二乙烯)苯能够获得比琼脂糖更快的流速和更短的加工时间。对于包含C_H3结构域的抗体而言，可使用Bakerbond ABX™树脂(J.T.Baker，Phillipsburg，NJ)进行纯化。根据待回收的抗体，也可使用其它蛋白质纯化技术，诸如离子交换柱上的分级分离、乙醇沉淀、反相HPLC、硅土上的层析、肝素SEPHAROSE™上的层析、阴离子或阳离子交换树脂(诸如聚天冬氨酸柱)上的层析、层析聚焦、SDS-PAGE和硫酸铵沉淀。

[1416] 在任何初步的纯化步骤后，包含目的抗体和污染物的混合物可以使用pH约2.5-4.5的洗脱缓冲液，优选在低盐浓度(例如约0-0.25M盐)进行低pH疏水相互作用层析。

[1417] G.药物配制剂

[1418] 可以通过适合于待治疗疾患的任何路径来施用本发明的抗体-药物偶联物(ADC)。典型地，胃肠外施用ADC，即输注，皮下、肌肉内、静脉内、真皮内、鞘内和硬膜外。

[1419] 为了治疗这些癌症，在一个实施方案中，抗体-药物偶联物经静脉内输注来施用。经输注而施用的剂量范围为大约1μg/m² 至大约10,000μg/m² 每剂，一般是每周一剂，总共一剂、两剂、三剂或四剂。或者，剂量范围是大约1μg/m² 至大约1000μg/m²、大约1μg/m² 至大约800μg/m²、大约1μg/m² 至大约600μg/m²、大约1μg/m² 至大约400μg/m²、大约10μg/m² 至大约500μg/m²、大约10μg/m² 至大约300μg/m²、大约10μg/m² 至大约200μg/m² 和大约1μg/m² 至大约200μg/m²。剂量施用可以每天一次、每周一次、每周多次但少于每天一次、每月多次但少于每天一次、每月多次但少于每周一次、每月一次或间歇地施用以减轻或缓解疾病的症状。施用可以以任何已公开的间隔持续进行，直至所治疗的白血病、淋巴瘤的症状或肿瘤消退。施用可以在实现症状消退或减轻后继续进行，其中所述消退或减轻因所述继续施用而延长。

[1420] 本发明还提供了缓解自身免疫性疾病的方法，包括给患有自身免疫性疾病的患者施用治疗有效量的任一前述实施方案的人源化MA79b抗体-药物偶联物。在优选的实施方案中，所述抗体是静脉内或皮下施用的。该抗体-药物偶联物以大约1μg/m² 至大约100mg/m² 每剂范围内的剂量静脉内施用，而且在一个具体的实施方案中，剂量是大约1μg/m² 至大约500mg/m²。剂量施用可以每天一次、每周一次、每周多次但少于每天一次、每月多次但少于每天一次、每月多次但少于每周一次、每月一次或间歇地施用以减轻或缓解疾病的症状。施用可以以任何已公开的间隔持续进行，直至所治疗的自身免疫性疾病的症状缓解。施用可以在实现症状减轻或缓解后继续进行，其中所述缓解或减轻因所述继续施用而延长。

[1421] 本发明还提供了治疗B细胞病症的方法，包括给患有B细胞病症(诸如B细胞增殖性病症(包括但不限于淋巴瘤和白血病)或自身免疫性疾病)的患者施用治疗有效量的

任一前述实施方案的人源化 MA79b 抗体，该抗体未偶联至细胞毒性分子或可检测分子。该抗体通常在大约 1 μ g/m^2 至大约 1000mg/m^2 的剂量范围内施用。

[1422] 一方面，本发明还提供了包含至少一种本发明抗 CD79b 抗体和 / 或至少一种其免疫偶联物和 / 或至少一种本发明抗 CD79b 抗体 - 药物偶联物的药物配制剂。在有些实施方案中，药物配制剂包含 :(1) 本发明的抗 CD79b 抗体和 / 或其免疫偶联物，和 (2) 药学可接受载体。在有些实施方案中，药物配制剂包含 :(1) 本发明的抗 CD79b 抗体和 / 或其免疫偶联物，和任选的 (2) 至少一种别的治疗剂。别的治疗剂包括但不限于下文所述的那些。典型地，胃肠外施用 ADC，即输注，皮下、肌肉内、静脉内、真皮内、鞘内和硬膜外。

[1423] 依照本发明使用的、包含抗 CD79b 抗体或 CD79b 免疫偶联物的治疗性配制剂通过将具有期望纯度的抗体或免疫偶联物与任选的药学可接受载体、赋形剂或稳定剂 (《Remington's Pharmaceutical Sciences》，第 16 版，Osol, A. 编，1980) 混合来制备成冻干剂型或水溶液的形式供贮存。可接受的载体、赋形剂或稳定剂在所采用的剂量和浓度对接受者是无毒的，并且包括 :缓冲剂，诸如乙酸盐、Tris、磷酸盐、柠檬酸盐和其它有机酸 ;抗氧化剂，包括抗坏血酸和甲硫氨酸 ;防腐剂 (诸如氯化十八烷基二甲基苄基铵 ;氯己双铵 ;苯扎氯铵、苄索氯铵 ;酚、丁醇或苄醇 ;对羟基苯甲酸烃基酯，诸如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯 ;邻苯二酚 ;间苯二酚 ;环己醇 ;3- 戊醇 ;和间甲酚) ;低分子量 (少于约 10 个残基) 多肽 ;蛋白质，诸如血清清蛋白、明胶或免疫球蛋白 ;亲水性聚合物，诸如聚乙烯吡咯烷酮 ;氨基酸，诸如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸 ;单糖、二糖和其它碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或糊精 ;螯合剂，诸如 EDTA ;张力调节剂 (tonicifier)，诸如海藻糖和氯化钠 ;糖类，诸如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨醇 ;表面活性剂，诸如聚山梨醇酯 ;成盐抗衡离子，诸如钠 ;金属复合物 (例如 Zn- 蛋白质复合物) ;和 / 或非离子表面活性剂，诸如TWEEN®、PLURONICS®或聚乙二醇 (PEG)。用于体内施用的药物配制剂一般是无菌的。这易于通过无菌滤膜过滤来实现。

[1424] 本文中的配制剂还可含有超过一种所治疗具体适应症所必需的活性化合物，优选活性互补且彼此没有不利影响的。例如，在抗 CD79b 抗体之外，可能还期望在一种配制剂中含有另一种抗体，例如结合 CD79b 多肽上不同表位的第二抗 CD79b 抗体，或针对一些其它靶物诸如影响特定癌生长的生长因子的抗体。或者 / 另外，所述组合物还可包含化疗剂、细胞毒剂、细胞因子、生长抑制剂、抗激素剂和 / 或心脏保护剂。合适的是，此类分子以对于预定目的有效的量组合存在。

[1425] 活性成分还可包载于例如通过凝聚技术或通过界面聚合制备的微胶囊中 (例如分别是羟甲基纤维素或明胶微胶囊和聚 (甲基丙烯酸甲酯) 微胶囊)、在胶状药物投递系统中 (例如脂质体、清蛋白微球体、微乳剂、纳米颗粒和纳米胶囊) 或在粗滴乳状液中。此类技术公开于 Remington's Pharmaceutical Sciences, 第 16 版 , Osol, A. 编 (1980)。

[1426] 可以制备持续释放制剂。持续释放制剂的合适例子包括含有抗体的固体疏水聚合物的半透性基质，该基质是定型产品的形式，例如薄膜或微胶囊。持续释放基质的例子包括聚酯、水凝胶 (例如聚 (2- 羟乙基 - 甲基丙烯酸酯) 或聚 (乙烯醇))、聚交酯 (美国专利 No. 3,773,919)、L- 谷氨酸和 γ - 乙基 L- 谷氨酸酯的共聚物、不可降解的乙烯 - 乙酸乙烯、可降解的乳酸 - 乙醇酸共聚物诸如 LUPRON DEPOT® (由乳酸 - 乙醇酸共聚物和醋酸亮丙瑞林构成的可注射微球体) 及聚 -D-(-)-3- 羟基丁酸。虽然诸如乙烯 - 乙酸乙烯和乳

酸-乙醇酸的聚合物能够释放分子达100天以上，但是某些水凝胶释放蛋白质的时间较短。当所封装的免疫球蛋白在体内长时间维持时，它们可能由于暴露于37℃的潮湿环境而变性或聚集，导致生物学活性损失和免疫原性可能改变。可以根据相关机制来设计合理的稳定化策略。例如，如果发现聚集机制是经由硫-二硫化物互换的分子间S-S键形成，那么可通过修饰巯基、自酸性溶液冻干、控制含水量、使用适宜添加剂和开发特定聚合物基质组合物来实现稳定化。

[1427] 抗体可配制成任何对于投递至靶细胞/组织合适的形式。例如，抗体可配制成免疫脂质体。“脂质体”指由各种类型脂质、磷脂和/或表面活性剂构成的，可用于对哺乳动物递送药物的小囊泡。与生物膜的脂质排列相似，脂质体的成分通常排列成双层形式。含有抗体的脂质体可通过本领域已知方法来制备，诸如Epstein等，Proc.Natl.Acad.Sci.USA 82:3688(1985)；Hwang等，Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:4030(1980)；美国专利No.4,485,045和4,544,545；及1997年10月23日公布的WO 97/38731中所述。循环时间延长的脂质体披露于美国专利No.5,013,556。

[1428] 可用包含磷脂酰胆碱、胆固醇和PEG衍生化磷脂酰乙醇胺(PEG-PE)的脂类组合物通过反相蒸发法生成特别有用的脂质体。将脂质体挤过具有设定孔径的滤器，以产生具有期望直径的脂质体。可如Martin等，J.Biol.Chem.257:286-288(1982)中所述，将本发明抗体的Fab’片段经二硫化物交换反应与脂质体偶联。任选在脂质体中包含化疗剂。参见Gabizon等，J.National Cancer Inst.81(19):1484(1989)。

[1429] 用于体内施用的配制剂必须是无菌的。这可容易地通过无菌滤膜过滤来实现。

[1430] H.使用抗CD79b抗体的治疗

[1431] 为了测定癌症中的CD79b表达，可利用多种检测测定法。在一个实施方案中，可通过免疫组化(IHC)来分析CD79b多肽过表达。可对来自肿瘤活组织检查的石蜡包埋组织切片进行IHC测定法，并给予如下CD79b蛋白质染色强度标准：

[1432] 得分0：未观察到染色或者在少于10％的肿瘤细胞中观察到膜染色。

[1433] 得分1+：在超过10％的肿瘤细胞中检测到微弱的/刚刚可察觉的膜染色。所述细胞只在其部分膜上有染色。

[1434] 得分2+：在超过10％的肿瘤细胞中观察到微弱至中等的完全膜染色。

[1435] 得分3+：在超过10％的肿瘤细胞中观察到中等至强烈的完全膜染色。

[1436] 那些CD79b多肽表达得分0或1+的肿瘤可鉴定为未过表达CD79b，而那些得分2+或3+的肿瘤可鉴定为过表达CD79b。

[1437] 或者/另外，可对福尔马林固定、石蜡包埋的肿瘤组织进行FISH测定法诸如INFORM®（由Ventana,Arizona销售）或PATHVISION®(Vysis,Illinois)以测定肿瘤中CD79b过表达的程度（如果有的话）。

[1438] 还可使用体内检测测定法来评估CD79b过表达或扩增，例如通过施用结合待检测分子且标记有可检测标记物（例如放射性同位素或荧光标记物）的分子（诸如抗体），然后对患者进行外部扫描以定位所述标记物。

[1439] 如上文所述，本发明的抗CD79b抗体具有多种非治疗性应用。本发明的抗CD79b抗体可用于表达CD79b多肽的癌症的分级（例如在放射成像中）。抗体还可用于从细胞中纯化或免疫沉淀CD79b多肽，用于CD79b多肽的体外检测和定量例如在ELISA或Western印

迹中，作为纯化其它细胞的一个步骤从混合细胞群中杀死和消除表达 CD79b 的细胞。

[1440] 现在，根据癌症的分级，癌症的治疗牵涉下列疗法中的一种或组合：手术去除癌性组织，放疗和化疗。抗 CD79b 抗体疗法对于不能很好承受化疗的毒性和副作用的老年患者和放疗具有有限效用的转移性疾病可能是尤其想要的。本发明的靶向肿瘤的抗 CD79b 抗体可用于在疾病的最初诊断时或在复发期间减轻表达 CD79b 的癌症。对于治疗性应用，可单独使用抗 CD79b 抗体，或者用于与例如激素、抗血管发生剂 (antiangiogen) 或放射标记的化合物，或者与手术、冷冻疗法和 / 或放疗的联合疗法。抗 CD79b 抗体的治疗可与其它形式的常规疗法联合施用，与常规疗法连续、在之前或之后。化疗药物诸如TAXOTERE®多西他塞 (doxetaxel)、TAXOL®帕利他塞 (paclitaxel)、雌莫司汀 (estramustine) 和米托蒽醌 (mitoxantrone) 用于治疗癌症，特别是无风险 (good risk) 的患者。在本发明治疗或减轻癌症的方法中，可给癌症患者施用抗 CD79b 抗体并联合一种或多种前述化疗剂的治疗。具体而言，设想了与紫杉醇及改良衍生物的联合疗法 (参见例如 EP 0 600 517)。将抗 CD79b 抗体与治疗有效剂量的化疗剂一起施用。在另一个实施方案中，联合化疗施用抗 CD79b 抗体以提高化疗剂例如紫杉醇的活性和功效。Physicians' Desk Reference(PDR) 公开了已经在多种癌症的治疗中使用的这些药剂的剂量。这些前述化疗药物在治疗上有效的剂量给药方案和剂量将取决于所治疗的具体癌症、疾病的程度、及有本领域技术的内科医师所熟悉的其它因素、且可以由内科医师确定。

[1441] 在一个具体的实施方案中，将包含与细胞毒剂偶联的抗 CD79b 抗体的偶联物施用于患者。优选的是，与 CD79b 蛋白质结合的免疫偶联物由细胞内在化，导致免疫偶联物在杀死其所结合的癌细胞方面的治疗功效提高。在一个优选的实施方案中，细胞毒剂靶向或干扰癌细胞中的核酸。此类细胞毒剂的例子上文已有描述，包括美登木素生物碱类、加利车霉素、核糖核酸酶及 DNA 内切核酸酶。

[1442] 将抗 CD79b 抗体或其毒素偶联物依照已知方法施用给人类患者，诸如静脉内施用，例如作为推注或一段时间的连续输注，通过肌肉内、腹膜内、脑脊髓内、皮下、关节内、滑膜内、鞘内、口服、局部或吸入路径。优选静脉内或皮下施用抗体。

[1443] 抗 CD79b 抗体的施用可联合其它治疗方案。联合施用包括使用分开的配制剂或单一的药用配制剂的共施用，及任意顺序的连续施用，其中优选有一段时间所有两种 (或多种) 活性剂同时发挥其生物学活性。优选的是，此类联合疗法导致协同治疗效果。

[1444] 可能还期望将一种或多种抗 CD79b 抗体的施用与针对与特定癌症有关的另一种肿瘤抗原的抗体的施用联合。

[1445] 在另一个实施方案中，本发明的治疗性处理方法牵涉 (一种或多种) 抗 CD79b 抗体与一种或多种化疗剂或生长抑制剂的联合施用，包括不同化疗剂的混合物 (cocktail) 的共施用或者一种或多种也抑制肿瘤生长的其它细胞毒剂或其它治疗剂。化疗剂包括磷酸雌莫司汀 (estramustine phosphate)、泼尼莫司汀 (prednimustine)、顺铂、5- 氟尿嘧啶、美法仑 (melphalan)、环磷酰胺、羟基脲和羟基脲紫杉烷 (hydroxyureataxane)(诸如紫杉醇和多西他塞 (doxetaxel)) 和 / 或蒽环类 (anthracycline) 抗生素。此类化疗剂的制剂和剂量给药方案可依照制造商的说明书使用或由熟练从业人员根据经验确定。此类化疗的制备和剂量给药方案还可参阅 Chemotherapy Service Ed.,M.C.Perry,Williams&Wilkins,Baltimore,MD(1992)。抗体可与抗激素化合物以此类分子的已知剂量联合，例如抗雌激素

化合物，诸如他莫昔芬（tamoxifen）；抗孕酮化合物，诸如奥那司酮（onapristone）（见 EP 616,812）；或抗雄激素化合物，诸如氟他米特（flutamide）。当待治疗癌症是雄激素非依赖性癌症时，患者可能先前已经接受过抗雄激素疗法，并在癌症变成雄激素非依赖性时，可以给患者施用抗 CD79b 抗体（及任选的本文所述其它药剂）。

[1446] 有时，还给患者共施用心脏保护剂（以预防或降低与疗法有关的心肌功能障碍）或一种或多种细胞因子可能也是有益的。除了上述治疗方案，在抗体疗法之前、同时或之后，可给患者进行手术去除癌细胞和 / 或放疗（例如外部射束照射或使用放射性标记药剂诸如抗体的疗法）。任何上述共施用药剂的合适剂量就是那些目前所使用的剂量，而且可由于该药剂与抗 CD79b 抗体的联合作用（协同作用）而降低。

[1447] 可以与优良医学实践一致的方式配制、剂量给药和施用本发明的抗体组合物。在此内容中考虑的因素包括所治疗的具体病症、所治疗的具体哺乳动物、患者个体的临床状况、病症的起因、投递药剂的部位、施药的方法、施药的日程安排和医学从业人员知道的其它因素。不是必需而是任选将抗体与目前用于预防或治疗所讨论病症的一种或多种药剂一起配制。此类其它药剂的有效量取决于配制剂中存在的本发明抗体的量、病症或治疗的类型和上文讨论的其它因素。这些通常是以与上文所用相同剂量和施用路径使用，或是迄今所用剂量的大约 1-99％。

[1448] 为了预防或治疗疾病，施用的剂量和模式可以由内科医师依照已知标准来选择。抗体的适宜剂量将取决于如上定义的待治疗疾病的类型、疾病的严重程度和进程、是为了预防还是治疗目的施用抗体、先前的疗法、患者的临床史及对抗体的响应、及主治医师的判断。恰当的将抗体一次性或在一系列治疗中施用给患者。优选的是，将抗体通过静脉内输注或通过皮下注射来施用。根据疾病的类型和严重程度，约 1μg/kg 至约 50mg/kg 体重（例如约 0.1-15mg/kg/ 剂）的抗体可作为初始侯选剂量施用给患者，无论是例如通过一次或多次分开的施用，或是通过连续输注。剂量给药方案可包括施用约 4mg/kg 的初始加载剂量，后续约 2mg/kg 抗 CD79b 抗体的每周维持剂量。然而，其它剂量方案也可使用。根据上述因素，典型的每日剂量可在约 1μg/kg 到 100mg/kg 或更多的范围内。对于持续几天或更长时间的重复施用，根据状况，维持治疗直到发生对疾病症状的期望遏制。这种疗法的进展可容易的通过常规方法和测定法，并基于内科医师或其它本领域技术人员知道的标准来监测。

[1449] 除了将抗体蛋白质施用给患者，本申请设想通过基因疗法来施用抗体。编码抗体的核酸的此类施用涵盖在表述“施用治疗有效量的抗体”中。关于使用基因疗法来产生胞内抗体的用途参见例如 1996 年 3 月 14 日公开的 WO 96/07321。

[1450] 有两种主要方法使核酸（任选包含在载体中）进入患者的细胞，即体内和回体（ex vivo）。对于体内投递，通常在需要抗体的部位将核酸直接注射到患者体内。对于回体治疗，采集患者的细胞，将核酸导入这些分离的细胞，并将经过修饰的细胞或是直接施用于患者，或是例如装入多孔膜内并植入患者体内（参见例如美国专利 4,892,538 和 5,283,187）。有多种技术可用于将核酸导入活细胞。这些技术根据是将核酸转移至预期宿主的体外培养细胞还是体内细胞而有所变化。适于在体外将核酸转移到哺乳动物细胞中的技术包括使用脂质体、电穿孔、显微注射、细胞融合、DEAE- 右旋糖苷、磷酸钙沉淀法等。常用于回体投递基因的载体是逆转录病毒。

[1451] 目前优选的体内核酸转移技术包括用病毒载体（诸如腺病毒、I 型单纯疱疹病毒

或腺伴随病毒）和基于脂质的系统（可用于脂质介导的基因转移的脂质有例如DOTMA、DOPE和DC-Chol）进行的转染。关于目前已知的基因标记和基因治疗方案的综述参见Anderson et al.,Science 256:808-813(1992)。还可参见WO 93/25673及其引用的参考文献。

[1452] 本发明的抗CD79b抗体可以是本文中“抗体”定义所涵盖的不同形式。因此，抗体包括全长或完整抗体，抗体片段，天然序列抗体或氨基酸变体，人源化的、嵌合的或融合抗体，免疫偶联物，及其功能性片段。在融合抗体中，抗体序列与异源多肽序列融合。可在Fc区中修饰抗体以提供期望的效应物功能。如本文的部分更为详细讨论的，凭借适宜的Fc区，结合在细胞表面上的裸抗体可诱导细胞毒性，例如经由抗体依赖性细胞细胞毒性(ADCC)，或通过在补体依赖性细胞毒性中募集补体，或一些其它机制。或者，在期望消除或降低效应物功能从而使副作用或治疗并发症降至最低时，可使用某些其它Fc区。

[1453] 在一个实施方案中，抗体与本发明抗体竞争对相同表位的结合或基本上结合相同表位。还设想了具有本发明抗CD79b抗体的生物学特征的抗体，明确包括体内肿瘤靶向和任何细胞增殖抑制或细胞毒性特征。

[1454] 本文详细描述了生成上述抗体的方法。

[1455] 本发明抗CD79b抗体可用于治疗哺乳动物中表达CD79b的癌症或减轻所述癌症的一种或多种症状。此类癌症包括但不限于造血癌症或血液相关癌症，诸如淋巴瘤、白血病、骨髓瘤或淋巴样恶性肿瘤，但是还有脾的癌症和淋巴结的癌症。此类B细胞相关癌症的更具体例子包括例如高级、中级和低级淋巴瘤（包括B细胞淋巴瘤，诸如例如粘膜相关淋巴样组织B细胞淋巴瘤和非何杰金氏淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤(Burkitt’s lymphoma)、小淋巴细胞性淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、弥漫性大细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤和何杰金氏淋巴瘤及T细胞淋巴瘤）和白血病（包括继发性白血病、慢性淋巴细胞性白血病诸如B细胞白血病(CD5+B淋巴细胞)、髓细胞性白血病诸如急性髓细胞样白血病、慢性髓细胞样白血病、淋巴样白血病诸如急性成淋巴细胞性白血病和脊髓发育不良）和其它血液学和/或B细胞或T细胞相关癌症。癌症涵盖任何前述的转移癌。抗体能够结合哺乳动物中表达CD79b多肽的癌细胞的至少一部分。在一个优选的实施方案中，抗体在体外或在体内在结合细胞上的CD79b多肽时有效破坏或杀死表达CD79b的肿瘤细胞或抑制此类肿瘤细胞的生长。此类抗体包括裸露的抗CD79b抗体（未与任何药剂偶联）。具有细胞毒性或细胞生长抑制特性的裸抗体可以进一步与细胞毒剂合作(harness)，使得它们在破坏肿瘤细胞上更有效。可以通过例如将抗体与细胞毒剂偶联形成本文所述免疫偶联物，而赋予抗CD79b抗体以细胞毒性特性。细胞毒剂或生长抑制剂优选是小分子。优选毒素诸如加利车霉素或美登木素生物碱类及其类似物或衍生物。

[1456] 本发明提供了包含本发明抗CD79b抗体及载体的组合物。为了治疗癌症的目的，可以将组合物施用于需要此类治疗的患者，其中组合物可包含一种或多种呈现为免疫偶联物或裸抗体的抗CD79b抗体。在另一个实施方案中，组合物可包含这些抗体并联合其它治疗剂诸如细胞毒剂或生长抑制剂，包括化疗剂。本发明还提供了包含本发明抗CD79b抗体及载体的配制剂。在一个实施方案中，配制剂是包含药学可接受载体的治疗用配制剂。

[1457] 本发明的另一个方面是编码抗CD79b抗体的分离核酸。设想了编码重链和轻链二者，尤其是高变区残基的核酸，编码天然序列抗体以及所述抗体的变体、修饰和人源化型式的链。

[1458] 本发明还提供了可用于治疗哺乳动物中表达 CD79b 多肽的癌症或减轻所述癌症的一种或多种症状的方法，包括给哺乳动物施用治疗有效量的抗 CD79b 抗体。抗体治疗用组合物可由内科医师指导，短期或长期或间断施用。还提供了抑制表达 CD79b 多肽的细胞生长和杀死它的方法。

[1459] 本发明还提供了包含至少一种抗 CD79b 抗体的试剂盒和制品。包含抗 CD79b 抗体的试剂盒可用于例如 CD79b 细胞杀伤测定法，从细胞中纯化或免疫沉淀 CD79b 多肽。例如，为了分离和纯化 CD79b，试剂盒可包含与珠子（例如 sepharose 珠子）偶联的抗 CD79b 抗体。可以提供包含抗体的试剂盒，用于 CD79b 的体外检测和定量，例如在 ELISA 或 Western 印迹中。可用于检测的此类抗体可以与标记物诸如荧光或放射标记物一起提供。

[1460] I. 抗体 - 药物偶联物治疗

[1461] 本发明的抗体 - 药物偶联物 (ADC) 可用于治疗各种疾病或病症，例如特征为肿瘤抗原过表达的。例示性的疾患或过度增殖性病症包括良性或恶性肿瘤；白血病和淋巴样恶性肿瘤。其它包括神经元的、神经胶质的、星形胶质细胞的、下丘脑的、腺体的、巨噬细胞的、上皮的、基质的、囊胚腔的、炎性的、血管发生性的和免疫学的（包括自身免疫性的）病症。

[1462] 可以在具有肿瘤的高级灵长类和人体临床试验中进一步测试在动物模型和基于细胞的试验中鉴定的 ADC 化合物。可以设计人体临床试验以测试本发明的抗 CD79b 单克隆抗体或免疫偶联物在经历 B 细胞增殖性病症的患者中的功效，所述 B 细胞增殖性病症包括但不限于淋巴瘤、非何杰金氏淋巴瘤 (NHL)、攻击性 NHL、复发性攻击性 NHL、复发性无痛性 NHL、顽固性 NHL、顽固性无痛性 NHL、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)、小淋巴细胞淋巴瘤、白血病、毛细胞白血病 (HCL)、急性淋巴细胞性白血病 (ALL) 和套细胞淋巴瘤。可以设计临床试验以便评价 ADC 与已知治疗方案的组合的功效，所述的已知治疗方案诸如包括已知化疗剂和 / 或细胞毒性剂的放疗和 / 或化疗。

[1463] 一般而言，所治疗的疾病或病症为过度增殖性疾病，诸如 B 细胞增殖性病症和 / 或癌症。癌症的实例包括，但不局限于 B 细胞增殖性病症，其选自淋巴瘤、非何杰金氏淋巴瘤 (NHL)、攻击性 NHL、复发性攻击性 NHL、复发性无痛性 NHL、顽固性 NHL、顽固性无痛性 NHL、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)、小淋巴细胞淋巴瘤、白血病、毛细胞白血病 (HCL)、急性淋巴细胞性白血病 (ALL) 和套细胞淋巴瘤。

[1464] 癌症可包含表达 CD79b 的细胞，使得本发明的 ADC 能够结合癌细胞。为了测定癌症中的 CD79b 表达，可利用多种诊断 / 预后测定法。在一个实施方案中，可通过 IHC 来分析 CD79b 过表达。可以对来自肿瘤活检的石蜡包埋组织切片进行 IHC 测定法并根据染色程度和所检查肿瘤细胞中的比例而给予 (accord)CD79b 蛋白质染色强度标准。

[1465] 为了预防或治疗疾病，ADC 的适当剂量取决于如上述定义的所治疗的疾病类型、疾病的严重程度和时程、给予所述分子是为了预防还是为了治疗目的、先前的治疗、患者的临床病史和对抗体的反应以及主治医师的判定。将所述的分子适当对患者给予一次或在一系列治疗过程中给予。根据疾病类型和严重程度的不同，对患者给药的分子的初始候选剂量约为 1 μ g/kg － 15mg/kg（例如 0.1-20mg/kg），例如，无论是通过一次或多次分开的给药，还是通过连续输注。典型的每日剂量可以在约 1 μ g/kg － 100mg/kg 或更大的范围，这取决于上述因素。对患者给予的典型的 ADC 的剂量在约 0.1 －约 10mg/kg 患者体重的范围。

[1466] 为了在几天或几天以上时程中反复给药，根据病情的不同，将治疗持续至对疾病

症状的所需抑制发生为止。典型的给药方案包含给予约 4mg/kg 的起始负荷剂量，随后给予约 2mg/kg 抗 ErbB2 抗体的每周维持剂量。其它剂量方案也是有用的。该疗法的进展易于通过常规技术和测定法监测。

[1467] J. 联合疗法

[1468] 可以将本发明的抗体 - 药物偶联物 (ADC) 与第二种具有抗癌特性的化合物在药物组合配制剂中联合或作为联合疗法以给药方案联合。所述药物组合配制剂或给药方案中的第二种化合物优选具有对组合中的 ADC 的补充活性，使得它们彼此不会产生不利影响。

[1469] 所述第二种化合物可以为化疗剂、细胞毒剂、细胞因子、生长抑制剂、抗激素剂和 / 或心脏保护剂。此类分子以对指定目的有效的量适当地联合存在。含有本发明 ADC 的药物组合物还可以具有治疗有效量的化疗剂，诸如微管蛋白形成抑制剂、拓扑异构酶抑制剂或 DNA 结合剂。

[1470] 一方面，所述第一化合物是本发明的抗 CD79b ADC，且所述第二化合物是抗 CD20 抗体 (或是裸抗体或是 ADC)。在一个实施方案中，所述第二化合物是抗 CD20 抗体利妥昔单抗 (rituximab, Rituxan®) 或 2H7(Genentech, Inc., South San Francisco, CA)。对于与本发明抗 CD79b ADC 的联合免疫疗法有用的另一种抗体包括但不限于抗 VEGF(例如 Avastin®)。

[1471] 可以将其它治疗方案与依照本发明所鉴定的抗癌药施用联合，包括但不限于放射疗法和 / 或骨髓和外周血移植和 / 或细胞毒剂、化疗剂或生长抑制剂。在一个这样的实施方案中，化疗剂是以下药剂或药剂组合，诸如例如环磷酰胺、羟基柔红霉素、阿霉素、多柔比星、长春新碱 (Oncovin™)、泼尼松龙、CHOP、CVP 或 COP，或者免疫治疗剂，诸如抗 CD20(例如 Rituxan®) 或抗 VEGF(例如Avastin®)。

[1472] 联合疗法可以作为同时或序贯方案施用。当序贯施用时，可以以两次或更多次施用来施用所述组合。联合施用包括使用分开的配制剂或单一药物配制剂的共施用，和任意次序的序贯施用，其中优选有一段时间所有活性剂同时发挥其生物学活性。

[1473] 在一个实施方案中，使用 ADC 的治疗牵涉联合施用本文中所鉴定的抗癌剂和一种或多种化疗剂或生长抑制剂，包括共施用不同化疗剂鸡尾酒样混合物。化疗剂包括紫杉烷类 (诸如帕利他赛 (paclitaxel) 和多西他赛 (docetaxel)) 和 / 或蒽环类抗生素。熟练从业人员可以按照制造商的说明书或凭经验确定地使用此类化疗剂的制备和剂量给药方案。此类化疗剂的制备和剂量给药方案还记载于“Chemotherapy Service”, (1992)M. C. Perry 编 , Williams&Wilkins, Baltimore, Md。

[1474] 任何上述共施用的药剂的合适剂量就是那些当前使用的剂量，而且可以由于新鉴定的药剂和其它化疗剂或治疗的联合作用 (协同作用) 而降低。

[1475] 联合疗法可以提供“协同作用”并且证实是“协同性”的，即当一起使用活性组分时所实现的效果大于分开使用所述化合物时所产生的效果之和。当活性组分为如下情况时可以获得协同效应 :(1) 共同配制和施用或在合并的单位剂量配制剂中同时投递 ;(2) 作为分开的配制剂交替或平行投递 ;或 (3) 通过一些其它方案。当在交替疗法中投递时，在序贯施用或投递所述化合物时，例如通过不同注射器中的不同注射，可以获得协同效应。一般而言，在交替疗法中，序贯地，即依序地施用每种活性组分的有效剂量，而在联合疗法中，一起施用两种或更多活性组分的有效剂量。

[1476] K. 制品和试剂盒

[1477] 本发明的另一个方面是包含可用于治疗、预防和 / 或诊断表达 CD79b 的癌症的物质的制品。制品包括容器和所述容器上或与其相关的标签或包装插页。合适的容器包括例如瓶子、小管、注射器等。容器可用各种材料制成，诸如玻璃或塑料。容器中装有有效治疗、预防和 / 或诊断癌症状况的组合物，而且可具有无菌存取口（例如容器可以是具有皮下注射针头可刺穿的塞子的静脉内溶液袋或小管）。组合物中的至少一种活性剂是本发明的抗 CD79b 抗体。标签或包装插页指示该组合物用于治疗癌症。标签或包装插页进一步包含给癌症患者施用抗体组合物的说明书。另外，制品还可包括第二容器，其中装有药学可接受的缓冲剂，诸如注射用抑菌水 (BWFI)、磷酸盐缓冲盐水、林格氏 (Ringer) 溶液和右旋糖溶液。它还可包括商业和用户立场上所需的其它物质，包括其它缓冲剂、稀释剂、滤器、针头和注射器。

[1478] 还提供了可用于多种目的的试剂盒，例如用于表达 CD79b 的细胞的杀伤测定法，用于从细胞中纯化或免疫沉淀 CD79b 多肽。为了分离和纯化 CD79b，试剂盒可包含与珠子（例如 sepharose 珠子）偶联的抗 CD79b 抗体。可以提供包含抗体的试剂盒，用于 CD79b 多肽的体外检测和定量，例如在 ELISA 或 Western 印迹中。与制品相同，试剂盒包括容器和所述容器上或与其相关的标签或包装插页。容器中装有包含至少一种本发明抗 CD79b 抗体的组合物。可包括另外的容器，其中装有例如稀释剂和缓冲剂、对照抗体。标签或包装插页可提供对组合物的描述以及用于预期体外或检测用途的说明书。

[1479] L. CD79b 多肽的用途

[1480] 本发明涵盖筛选化合物以鉴定那些模拟 CD79b 多肽（激动剂）或阻止 CD79b 多肽产生效果（（拮抗剂）的化合物的方法。用于拮抗剂药物候选物的筛选测定法设计成鉴定与本文鉴定的基因所编码的 CD79b 多肽结合或复合，或者以其它方式干扰所编码多肽与其它细胞蛋白质相互作用的化合物，包括例如抑制细胞表达 CD79b 多肽。此类筛选测定法包括适应高通量筛选化学文库的测定法，使得它们特别适用于鉴定小分子药物候选物。

[1481] 可以多种形式进行测定法，包括本领域已经很好表征的蛋白质 - 蛋白质结合测定法、生物化学筛选测定法、免疫测定法和基于细胞的测定法。

[1482] 用于拮抗剂的所有测定法的共同之处在于它们需要使药物候选物接触本文鉴定的核酸所编码的 CD79b 多肽，其条件和时间足以使这两种组分相互作用。

[1483] 在结合测定法中，相互作用指结合，所形成的复合物可在反应混合物中分离或检测。在一个具体的实施方案中，将本文鉴定的基因所编码的 CD79b 多肽或药物候选物通过共价或非共价附着固定在固相上，例如微量滴定板。非共价附着通常通过用 CD79b 多肽溶液包被固相表面并干燥来实现。或者，对待固定的 CD79b 多肽特异的固定化抗体例如单克隆抗体可用于将它锚定到固相表面上。测定法如下进行，将可以用可检测标记物标记的非固定化组分加到固定化组分例如包含锚定组分的包被表面上。在反应完成时，例如通过清洗除去未反应的组分，并检测锚定到固相表面上的复合物。若最初的非固定化组分携带可检测标记物，检测出固定到表面上的标记物表明发生了复合作用。若最初的非固定化组分不携带标记物，可例如通过使用特异性结合已固定复合物的标记抗体来检测复合作用。

[1484] 如果候选化合物与本文鉴定的基因所编码的特定 CD79b 多肽相互作用但不结合，那么它与该多肽的相互作用可通过用于检测蛋白质 - 蛋白质相互作用的公知方法来测定。

此类测定法包括传统方法，诸如例如交联、免疫共沉淀和通过梯度或层析柱的共纯化。另外，可以如 Chevray and Nathans, 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:5789-5793 所公开的，使用 Fields 及其同事 (Fields and Song, 1989, Nature(London) 340:245-246 ; Chien et al., 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:9578-9582) 描述的基于酵母的遗传系统来监测蛋白质 - 蛋白质相互作用。许多转录激活物，诸如酵母 GAL4，由两个空间上离散的模块结构域组成，一个起 DNA 结合结构域的作用，另一个起转录激活结构域的功能。上述出版物中描述的酵母表达系统（通称为“双杂交系统”）利用了此特性，采用两种杂合蛋白质，在一个中将靶蛋白质与 GAL4 的 DNA 结合结构域融合，而在另一个中将候选激活蛋白质与激活结构域融合。GAL1-lacZ 报道基因在 GAL4 激活的启动子控制下的表达依赖于 GAL4 活性经由蛋白质 - 蛋白质相互作用的重建。用 β - 半乳糖苷酶的显色底物检测包含相互作用多肽的菌落。使用双杂交技术鉴定两种特定蛋白质之间的蛋白质 - 蛋白质相互作用的完整试剂盒 (MATCHMAKER™) 可从 Clontech 购买。此系统还可延伸到对参与特定蛋白质相互作用的蛋白质结构域的作图以及指出对这些相互作用至关重要的氨基酸残基。

[1485] 干扰本文鉴定的基因所编码的 CD79b 多肽与其它胞内或胞外组分相互作用的化合物可如下测试 : 通常在足以使两种产物相互作用和结合的条件和时间下制备包含基因产物及胞内或胞外组分的反应混合物。为了测试候选化合物抑制结合的能力，在缺乏和存在测试化合物时进行反应。另外，可以向第三份反应混合物中加入安慰剂，作为阳性对照。如上所述监测混合物中存在的 CD79b 多肽和胞内或胞外组分之间的结合（复合物形成）。对照反应物中形成复合物但含有测试化合物的反应混合物中没有形成复合物表明，测试化合物干扰 CD79b 多肽与其反应配偶体的相互作用。

[1486] 为了测定拮抗剂，可将 CD79b 多肽与要筛选特定活性的化合物一起加到细胞中，在存在 CD79b 多肽时该化合物抑制目的活性的能力表明，该化合物是 CD79b 多肽的拮抗剂。或者，可如下检测拮抗剂，将 CD79b 多肽和潜在的拮抗剂与膜结合的 CD79b 多肽受体或重组受体在适于竞争性抑制测定法的条件下组合。CD79b 多肽可进行标记，诸如通过放射性，使得与受体结合的 CD79b 多肽分子的数目可用于测定潜在拮抗剂的效力。编码受体的基因可通过本领域技术人员知道的多种方法来鉴定，例如配体淘选和 FACS 分选。Coligan et al., 1991, Current Protocols in Immun. 1(2) : Chapter 5。优选的是，采用表达克隆，其中从对 CD79b 多肽有响应的细胞制备多腺苷酸化 RNA，将从此 RNA 构建的 cDNA 文库分成几个集合，并用于转染 COS 细胞或对 CD79b 多肽没有响应的其它细胞。使在载玻片上培养的转染细胞暴露于经过标记的 CD79b 多肽。可通过多种手段来标记 CD79b 多肽，包括碘化或包含位点特异性蛋白质激酶的识别位点。固定和温育后，将载玻片进行放射自显影分析。鉴定阳性集合，制备子集，并用相互作用的子集进行再次转染和再次筛选过程，最后产生编码推定受体的单个克隆。

[1487] 作为受体鉴定的备选方法，可使经标记的 CD79b 多肽与表达受体分子的细胞膜或提取制备物光亲和性相连。通过 PAGE 解析交联物质并对 X- 射线胶片曝光。可切下包含受体的标记复合物，解离成肽片段，并进行蛋白质微量测序。从微量测序获得的氨基酸序列可用于设计一组简并寡核苷酸探针，用于筛选 cDNA 文库以鉴定编码推定受体的基因。

[1488] 在用于拮抗剂的另一种测定法中，在存在候选化合物时将表达受体的哺乳动物细胞或膜制备物与经过标记的 CD79b 多肽一起温育。然后测量所述化合物增强或阻断此相互

作用的能力。

[1489] 潜在拮抗剂的更具体的例子包括结合免疫球蛋白与 CD79b 多肽的融合物的多肽，特别是抗体，包括但不限于多克隆和单克隆抗体及抗体片段，单链抗体，抗独特型抗体，和嵌合的或人源化型式的此类抗体或片段，以及人抗体和抗体片段。或者，潜在的拮抗剂可以是密切相关的蛋白质，例如识别受体但不起作用，由此竞争性抑制 CD79b 多肽的作用的突变形式的 CD79b 多肽。

[1490] 本文鉴定的特异性结合 CD79b 多肽的抗体以及通过上文公开的筛选测定法鉴定的其它分子可以以药用组合物的形式施用，用于治疗多种紊乱，包括癌症。

[1491] 如果 CD79b 多肽在胞内，而且使用完整抗体作为抑制剂，那么优选使抗体内在化。然而，还可以用脂转染或脂质体将抗体或抗体片段投递到细胞中。在使用抗体片段时，优选特异性结合靶蛋白质的结合结构域的最小抑制性片段。例如，根据抗体的可变区序列，可以设计保留与靶蛋白质序列结合能力的肽分子。此类肽可以化学合成和 / 或通过重组 DNA 技术生成。参见例如 Marasco et al., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:7889-7893。

[1492] 本文中的配制剂还可含有所治疗具体适应症所必需的超过一种活性化合物，优选那些活性互补且彼此没有不利影响的。或者 / 另外，组合物可包含增强其功能的药剂，诸如例如细胞毒剂、细胞因子、化疗剂或生长抑制剂。合适的是，此类分子以对于预定目的有效的量组合存在。

[1493] M. 抗体衍生物

[1494] 可进一步修饰本发明的抗体以包含本领域知道的且易于获得的额外非蛋白质性质模块。优选的是，适于抗体衍生化的模块是水溶性聚合物。水溶性聚合物的非限制性例子包括但不限于聚乙二醇 (PEG)、乙二醇 / 丙二醇共聚物、羧甲基纤维素、右旋糖苷、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚 -1,3- 二氧戊环、聚 -1,3,6- 三噁烷、乙烯 / 马来酸酐共聚物、聚氨基酸（均聚物或随机共聚物）、右旋糖苷或聚 (n- 乙烯吡咯烷酮）聚乙二醇、丙二醇均聚物、环氧丙烷 / 环氧乙烷共聚物、聚氧乙烯化多元醇（例如甘油）、聚乙烯醇、及其混合物。由于其在水中的稳定性，聚乙二醇丙醛在生产中可能具有优势。聚合物可以是任何分子量，而且可以是分支的或不分支的。附着于抗体的聚合物数目可以变化，而且如果附着了超过一个聚合物，那么它们可以是相同或不同的分子。一般而言，可根据下列考虑来确定用于衍生化的聚合物的数目和 / 或类型，包括但不限于待改进抗体的具体特性或功能、抗体衍生物是否将用于指定条件下的治疗等。

[1495] N. 筛选方法

[1496] 本发明的又一个实施方案致力于测定怀疑含有 CD79b 多肽的样品中该 CD79b 多肽的存在的方法，其中该方法包括使所述样品暴露于结合所述 CD79b 多肽的其抗体药物偶联物，并测定所述样品中所述其抗体药物偶联物与所述 CD79b 多肽的结合，其中此类结合的存在表明所述样品中存在所述 CD79b 多肽。任选的是，所述样品可包括怀疑表达 CD79b 多肽的细胞（可以是癌细胞）。本发明方法中所采用的抗体药物偶联物可任选被可检测地标记、附着于固相支持物，或诸如此类。

[1497] 本发明的又一个实施方案致力于诊断哺乳动物中肿瘤的存在的方法，其中该方法包括 (a) 使包含从所述哺乳动物获得的组织细胞的测试样品接触结合 CD79b 多肽的其抗体药物偶联物，并 (b) 检测所述测试样品中所述其抗体药物偶联物和所述 CD79b 多肽之间复

合物的形成，其中复合物的形成表明所述哺乳动物中存在肿瘤。任选的是，所采用的其抗体药物偶联物被可检测地标记，附着于固相支持物，或诸如此类，和 / 或所述组织细胞的测试样品是从怀疑具有癌性肿瘤的个体获得的。

[1498] IV. 使用抗 CD79b 抗体和免疫偶联物的其它方法

[1499] A. 诊断方法和检测方法

[1500] 一方面，本发明的抗 CD79b 抗体和免疫偶联物可用于检测生物学样品中 CD79b 的存在。术语“检测”在用于本文时涵盖定量或定性检测。在某些实施方案中，生物学样品包含细胞或组织。在某些实施方案中，此类组织包括相对于其它组织以更高水平表达 CD79b 的正常的和 / 或癌性的组织，例如 B 细胞和 / 或 B 细胞相关组织。

[1501] 一方面，本发明提供了检测生物学样品中 CD79b 的存在的方法。在某些实施方案中，所述方法包括在容许抗 CD79b 抗体结合 CD79b 的条件下使生物学样品接触抗 CD79b 抗体，并检测在抗 CD79b 抗体与 CD79b 之间是否形成复合物。

[1502] 一方面，本发明提供了诊断与 CD79b 表达升高有关的病症的方法。在某些实施方案中，所述方法包括使测试细胞接触抗 CD79b 抗体；通过检测抗 CD79b 抗体对 CD79b 的结合，测定测试细胞的 CD79b 表达水平（或是定量的或是定性的）；并比较测试细胞的 CD79b 表达水平与对照细胞（例如与测试细胞相同组织起源的正常细胞或以与这样的正常细胞相当的水平表达 CD79b 的细胞）的 CD79b 表达水平，其中测试细胞的 CD79b 表达水平比对照细胞高指示存在与 CD79b 表达升高有关的病症。在某些实施方案中，测试细胞得自怀疑患有与 CD79b 表达升高有关的病症的患者。在某些实施方案中，所述病症是细胞增殖性病症，诸如癌症或肿瘤。

[1503] 可以使用本发明的抗体诊断的例示性细胞增殖性病症包括 B 细胞病症和 / 或 B 细胞增殖性病症，包括但不限于淋巴瘤、非何杰金氏淋巴瘤 (NHL)、攻击性 NHL、复发性攻击性 NHL、复发性无痛性 NHL、顽固性 NHL、顽固性无痛性 NHL、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)、小淋巴细胞淋巴瘤、白血病、毛细胞白血病 (HCL)、急性淋巴细胞性白血病 (ALL) 和套细胞淋巴瘤。

[1504] 在某些实施方案中，诊断或检测方法，诸如上文所述，包括检测抗 CD79b 抗体对在细胞表面上表达的 CD79b 或在得自在其表面上表达 CD79b 的细胞的膜制备物中的 CD79b 的结合。在某些实施方案中，所述方法包括在容许抗 CD79b 抗体结合 CD79b 的条件下使细胞接触抗 CD79b 抗体，并检测在抗 CD79b 抗体与细胞表面上的 CD79b 之间是否形成复合物。用于检测抗 CD79b 抗体对在细胞表面上表达的 CD79b 的结合的例示性测定法是“FACS”测定法。

[1505] 可以使用某些其它方法来检测抗 CD79b 抗体对 CD79b 的结合。此类方法包括但不限于本领域公知的抗原结合测定法，诸如 Western 印迹、放射免疫测定法、ELISA（酶联免疫吸附测定法）、“三明治 / 夹心式”免疫测定法、免疫沉淀测定法、荧光免疫测定法、蛋白 A 免疫测定法和免疫组化 (IHC)。

[1506] 在某些实施方案中，抗 CD79b 抗体是经过标记的。标记物包括但不限于直接检测的标记物或模块（诸如荧光、显色、电子密度、化学发光和放射性标记物），以及间接检测的模块，诸如酶或配体，例如通过酶促反应或分子相互作用。例示性的标记物包括但不限于放射性同位素 ^{32}P、^{14}C、^{125}I、^{3}H 和 ^{131}I，荧光团诸如稀土螯合物或荧光素及其衍生物，罗丹

明及其衍生物，丹酰，伞形酮，萤光素酶例如萤火虫萤光素酶和细菌萤光素酶（美国专利No.4,737,456），萤光素，2,3- 二氢萘嗪二酮，辣根过氧化物酶 (HRP)，碱性磷酸酶，β - 半乳糖苷酶，葡糖淀粉酶，溶菌酶，糖氧化酶例如葡萄糖氧化酶、半乳糖氧化酶和葡萄糖 -6- 磷酸脱氢酶，杂环氧化酶诸如尿酸酶和黄嘌呤氧化酶，偶联利用过氧化氢氧化染料前体的酶HRP、乳过氧化物酶或微过氧化物酶，生物素 / 亲合素，自旋标记物，噬菌体标记物，稳定自由基等等。

[1507] 在某些实施方案中，抗 CD79b 抗体是固定在不溶性基质上的。固定化能够将抗CD79b 抗体与仍然在溶液中游离的任何 CD79b 分开。这可以如下常规进行 ：或是通过在测定规程之前使抗 CD79b 抗体不溶解，即通过吸附至水不溶性基质或表面 (Bennich et al.,U.S.3,720,760) 或通过共价偶联（例如使用戊二醛交联）；或者通过在抗 CD79b 抗体与 CD79b 之间形成复合物之后使抗 CD79b 抗体不溶解，即例如通过免疫沉淀。

[1508] 可以使用本发明的免疫偶联物来实施诊断或检测的任何上述实施方案，或是将所述免疫偶联物替换为抗 CD79b 抗体或是所述免疫偶联物与抗 CD79b 抗体一起使用。

[1509] B. 治疗方法

[1510] 本发明的抗体或免疫偶联物可用于例如体外、回体 (ex vivo) 和体内治疗方法。一方面，本发明提供了在体内或在体外抑制细胞生长或增殖的方法，所述方法包括在容许免疫偶联物结合 CD79b 的条件下使细胞暴露于抗 CD79b 抗体或其免疫偶联物。“抑制细胞生长或增殖”意味着将细胞的生长或增殖降低至少 10％、20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％、95％或 100％，而且包括诱导细胞死亡。在某些实施方案中，所述细胞是肿瘤细胞。在某些实施方案中，所述细胞是 B 细胞。在某些实施方案中，所述细胞是异种移植物，例如本文中所例示的。

[1511] 一方面，本发明的抗体或免疫偶联物可用于治疗或预防 B 细胞增殖性病症。在某些实施方案中，所述细胞增殖性病症与 CD79b 的表达和 / 或活性升高有关。例如，在某些实施方案中，所述 B 细胞增殖性病症与 B 细胞表面上的 CD79b 表达升高有关。在某些实施方案中，所述 B 细胞增殖性病症是肿瘤或癌症。有待用本发明的抗体或免疫偶联物治疗的 B 细胞增殖性病症的实例包括但不限于淋巴瘤、非何杰金氏淋巴瘤 (NHL)、攻击性 NHL、复发性攻击性 NHL、复发性无痛性 NHL、顽固性 NHL、顽固性无痛性 NHL、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)、小淋巴细胞淋巴瘤、白血病、毛细胞白血病 (HCL)、急性淋巴细胞性白血病 (ALL) 和套细胞淋巴瘤。

[1512] 一方面，本发明提供了治疗 B 细胞增殖性病症的方法，包括给个体施用有效量的抗 CD79b 抗体或其免疫偶联物。在某些实施方案中，用于治疗 B 细胞增殖性病症的方法包括给个体施用有效量的药用组合物，其包含包含抗 CD79b 抗体或抗 CD79b 免疫偶联物和任选的至少一种别的治疗剂，诸如下文所提供的。在某些实施方案中，用于治疗 B 细胞增殖性病症的方法包括给个体施用有效量的药物组合物，其包含 1) 包含抗 CD79b 抗体与细胞毒剂的免疫偶联物 ；和任选地 2) 至少一种别的治疗剂，诸如下文所提供的。

[1513] 一方面，本发明的至少有些抗体或免疫偶联物可结合来自人以外物种的 CD79b。因而，本发明的抗体或免疫偶联物可用于结合例如包含 CD79b 的细胞培养物中的、人中的或具有本发明与其交叉反应的 CD79b 的其它哺乳动物（例如黑猩猩、狒狒、狨、猕猴和恒河猴，猪或小鼠）中的 CD79b。在一个实施方案中，抗 CD79b 抗体或免疫偶联物可用于靶向 B 细胞

上的CD79b，其通过使所述抗体或免疫偶联物接触CD79b以形成抗体或免疫偶联物-抗原复合物，使得免疫偶联物所偶联得细胞毒素到达细胞内部。在一个实施方案中，所述CD79b是人CD79b。

[1514] 在一个实施方案中，抗CD79b抗体或免疫偶联物可用于结合患有与CD79b表达和/或活性升高有关的病症的个体中的CD79b的方法，所述方法包括给个体施用抗体或免疫偶联物使得个体中的CD79b得到结合。在一个实施方案中，CD79b结合的抗体或免疫偶联物被内化入表达CD79b的细胞中。在一个实施方案中，所述CD79b是人CD79b，所述个体是人个体。或者，所述个体可以是表达抗CD79b抗体与其结合的CD79b的哺乳动物。还有，所述个体可以是导入了CD79b的个体（例如通过施用CD79b或通过表达编码CD79b的转基因）。

[1515] 可以出于治疗目的将抗CD79b抗体或免疫偶联物施用于人。此外，可以出于兽医目的或作为人类疾病的动物模型将抗CD79b抗体或免疫偶联物施用于表达抗体与其交叉反应的CD79b的非人哺乳动物（例如灵长类动物、猪、大鼠或小鼠）。关于后者，此类动物模型可用于评估本发明抗体或免疫偶联物的疗效（例如测试施用的剂量和时间进程）。

[1516] 本发明的抗体或免疫偶联物可以在治疗中单独使用或联合其它组合物施用。例如，本发明的抗体或免疫偶联物可以与至少一种别的治疗剂和/或佐剂共施用。在某些实施方案中，别的治疗剂是细胞毒剂、化疗剂或生长抑制剂。在一个这样的实施方案中，化疗剂是以下药剂或药剂组合，诸如例如环磷酰胺、羟基柔红霉素、阿霉素、多柔比星、长春新碱(Oncovin™)、泼尼松龙、CHOP、CVP或COP，或者免疫治疗剂，诸如抗CD20（例如Rituxan®）或抗VEGF（例如Avastin®），其中所述组合疗法在以下癌症和/或B细胞病症的治疗中是有用的，包括淋巴瘤、非何杰金氏淋巴瘤(NHL)、攻击性NHL、复发性攻击性NHL、复发性无痛性NHL、顽固性NHL、顽固性无痛性NHL、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、小淋巴细胞淋巴瘤、白血病、毛细胞白血病(HCL)、急性淋巴细胞性白血病(ALL)和套细胞淋巴瘤。

[1517] 上文所述此类联合疗法涵盖联合施用（其中两种或多种治疗剂包含在同一配制剂中或分开的配制剂中）和分开施用，其中本发明抗体或免疫偶联物的施用可以在别的治疗剂和/或佐剂的施用之前、同时和/或之后进行。本发明的抗体或免疫偶联物还可以与放疗联合。

[1518] 本发明的抗体或免疫偶联物（及任何别的治疗剂或佐剂）可以通过任何合适的手段来施用，包括胃肠外、皮下、腹膜内、肺内和鼻内，及损伤内施用（如果希望局部治疗的话）。胃肠外输注包括肌肉内、静脉内、动脉内、腹膜内或皮下施用。另外，通过脉冲输注来施用抗体或免疫偶联物是合适的，特别是使用递减剂量的抗体或免疫偶联物。剂量给药可以通过任何合适的路径，例如通过注射，诸如静脉内或皮下注射，这部分取决于施用是短暂的还是长时间的。

[1519] 可以与优良医学实践一致的方式配制、剂量给药和施用本发明的抗体或免疫偶联物。在此内容中考虑的因素包括所治疗的具体病症、所治疗的具体哺乳动物、患者个体的临床状况、病症的起因、投递药剂的部位、施药的方法、施药的日程安排和医学从业人员知道的其它因素。不是必需而是任选将抗体或免疫偶联物与目前用于预防或治疗所讨论病症的一种或多种药剂一起配制。此类其它药剂的有效量取决于配制剂中存在的抗体或免疫偶联物的量、病症或治疗的类型和上文讨论的其它因素。这些通常是以与本文所用相同剂量和施用路径使用，或是本文所述剂量的大约1-99％，或是凭经验/在临床上确定为适宜的任

何剂量和任何路径。

[1520] 对于疾病的预防或治疗，本发明抗体或免疫偶联物的适宜剂量（在单独使用或联合一种或多种其它别的药剂诸如化疗剂时）将取决于待治疗疾病的类型、抗体或免疫偶联物的类型、疾病的严重程度和进程、施用抗体或免疫偶联物是出于预防还是治疗目的、先前的疗法、患者的临床病史和对抗体或免疫偶联物的响应、及主治医师的判断。合适的是，一次性或通过一系列治疗将抗体或免疫偶联物施用于患者。根据疾病的类型和严重程度，施用于患者的初始候选剂量可以是约 1 μ g/kg 至 100mg/kg（例如 0.1mg/kg-20mg/kg）抗体或免疫偶联物，例如或是通过一次或多次分开施药或是通过连续输注。根据上文所述因素，典型日剂量的范围可以是约 1 μ g/kg 至 100mg/kg 或更多。对于持续数天或更长的重复施药，根据状况，通常持续治疗直至疾病症状发生期望的抑制。抗体或免疫偶联物的例示剂量的范围可以是约 0.05mg/kg 至约 10mg/kg。如此，可对患者施用约 0.5mg/kg、2.0mg/kg、4.0mg/kg 或 10mg/kg（或其任意组合）的一剂或多剂抗体或免疫偶联物。这些剂量可间歇施用，例如每周或每三周（例如使得患者接受约 2 剂至约 20 剂，例如约 6 剂抗体或免疫偶联物）。可施用一剂较高的初始加载剂量，后续一剂或多剂较低剂量。例示性剂量给药方案包括施用一剂约 4mg/kg 抗体的初始加载剂量，后续每周一剂约 2mg/kg 的维持剂量。然而，其它剂量方案也可能是有用的。这种疗法的进程易于通过常规技术和测定法来监测。

[1521] C. 活性测定法

[1522] 本发明的抗 CD79b 抗体和免疫偶联物可以通过本领域知道的各种测定法来表征其物理 / 化学特性和 / 或生物学活性。

[1523] 1. 活性测定法

[1524] 一方面，提供了用于鉴定具有生物学活性的抗 CD79b 抗体或其免疫偶联物的方法。生物学活性可以包括例如抑制细胞生长或增殖的能力（例如“细胞杀伤”活性）或诱导细胞死亡（包括程序性细胞死亡（凋亡））的能力。还提供了在体内和 / 或在体外具有此类生物学活性的抗体或免疫偶联物。

[1525] 在某些实施方案中，测试抗 CD79b 抗体或其免疫偶联物在体外抑制细胞生长或增殖的能力。抑制细胞生长或增殖的测定法是本领域公知的。细胞增殖的某些测定法，以本文所述“细胞杀伤”测定法为例，测量细胞存活力 (viability)。一种这样的测定法是 CellTiter-Glo™ 发光细胞存活力测定法，其可购自 Promega(Madison,WI)。该测定法基于存在的 ATP（有代谢活性的细胞的一项指标）的定量来测定培养物中的存活细胞数。参见 Crouch et al(1993)J.Immunol.Meth.160:81-88；美国专利 No.6602677。该测定法可以以 96 孔或 384 孔形式进行，使之适应自动化高通量筛选 (HTS)。参见 Cree et al(1995)AntiCancer Drugs 6:398-404。该测定法规程涉及直接向培养细胞添加单一试剂（CellTiter-Glo® 试剂）。这导致细胞溶解和通过萤光素酶反应产生的发光信号的生成。发光信号与存在的 ATP 的量成正比，后者直接与培养物中存在的存活细胞数成正比。可以通过光度计或 CCD 照相机成像装置来记录数据。发光输出表述成相对光单位 (RLU)。

[1526] 细胞增殖的另一种测定法是“MTT”测定法，一种测量 3-(4,5- 二甲基噻唑 -2- 基）-2,5- 二苯基四唑氮溴化物被线粒体还原酶氧化成甲臜 (formazan) 的比色测定法。与 CellTiter-Glo™ 测定法一样，此测定法指示细胞培养物中存在的有代谢活性的细胞的量。参见例如 Mosmann(1983)J.Immunol.Meth.65:55-63；Zhang et al.(2005)Cancer

Res.65:3877-3882。

[1527] 一方面，测试抗 CD79b 抗体在体内诱导细胞死亡的能力。诱导细胞死亡的测定法是本领域公知的。在有些实施方案中，此类测定法测量例如膜完整性的丧失，其通过碘化丙啶 (PI)、锥虫蓝（参见 Moore et al.(1995)Cytotechnology,17:1-11）或 7AAD 的摄取来指示。在一种例示性 PI 摄取测定法中，将细胞在补充有 10％热灭活 FBS(Hyclone) 和 2mM L- 谷氨酰胺的 Dulbecco 氏改良 Eagle 培养基 (D-MEM):Ham's F-12(50:50) 中培养。如此，该测定法在缺乏补体和免疫效应细胞时进行。将细胞以 $3x10^6$ 个 / 盘接种入 100x20mm 盘，并容许附着过夜。除去培养基，并用单独的培养基或含有各种浓度抗体或免疫偶联物的培养基更换。将细胞温育 3 天时间段。处理后，将细胞单层用 PBS 清洗，并通过胰蛋白酶处理而脱离。然后将细胞于 4℃以 1200rpm 离心 5 分钟，将沉淀物重悬于 3ml 冷的 Ca^{2+} 结合缓冲液 (10mM Hepes,pH 7.4,140mM NaCl,2.5mM $CaCl_2$)，并等分入 35mm 盖有滤网 (strainer-capped) 的 12x75mm 管 (1ml/ 管，3 管 / 处理组）以除去细胞团快。然后向管中加入 PI(10μg/ml)。使用 FACSCAN™ 流式细胞仪和 FACSCONVERT™CellQuest 软件 (Becton Dickinson) 分析样品。根据 PI 摄取的测定诱导统计学显著水平的细胞死亡的抗体或免疫偶联物如此得到鉴定。

[1528] 一方面，测试抗 CD79b 抗体或免疫偶联物诱导凋亡（程序性细胞死亡）的能力。诱导凋亡的抗体或免疫偶联物的一种例示性测定法是膜联蛋白结合测定法。在一种例示性的膜联蛋白结合测定法中，将细胞如上一段所述培养并接种入盘。除去培养基，并用单独的新鲜培养基或含有 0.001-10μg/ml 抗体或免疫偶联物的培养基更换。3 天温育期后，将细胞单层用 PBS 清洗，并通过胰蛋白酶处理脱离。然后将细胞如上一段所述离心，重悬于 Ca^{2+} 结合缓冲液，并等分入管。然后向管中加入标记的膜联蛋白（例如膜联蛋白 V-FITC)(1μg/ml)。使用 FACSCAN™ 流式细胞仪和 FACSCONVERT™ CellQuest 软件 (Becton Dickinson) 分析样品。相对于对照诱导统计学显著水平的膜联蛋白结合的抗体或免疫偶联物如此得到鉴定。诱导凋亡的抗体或免疫偶联物的另一种例示性测定法是组蛋白 DNA ELISA 比色测定法，其用于检测基因组 DNA 的核小体间降解。这样的测定法可使用例如细胞死亡检测 ELISA 试剂盒 (Roche,Palo Alto,CA) 来进行。

[1529] 可用于任何上述体外测定法的细胞包括在正常情况下表达 CD79b 或经改造而表达 CD79b 的细胞或细胞系。此类细胞包括相对于同一组织起源的正常细胞过表达 CD79b 的肿瘤细胞。此类细胞还包括表达 CD79b 的细胞系（包括肿瘤细胞系）和在正常情况下不表达 CD79b 但经 CD79b 编码核酸转染的细胞系。

[1530] 一方面，测试抗 CD79b 抗体或其免疫偶联物在体内抑制细胞生长或增殖的能力。在某些实施方案中，测试抗 CD79b 抗体其或免疫偶联物在体内抑制肿瘤生长的能力。体内模型系统，诸如异种移植物模型，可用于此类测试。在一种例示性异种移植物系统中，将人肿瘤细胞导入合适的免疫受损的非人动物，例如 SCID 小鼠。将本发明的抗体或免疫偶联物施用于所述动物。测量抗体或免疫偶联物抑制或降低肿瘤生长的能力。在上述异种移植物系统的某些实施方案中，所述人肿瘤细胞是来自人类患者的肿瘤细胞。此类对于制备异种移植物模型有用的细胞包括人白血病和淋巴瘤细胞系，其包括但不限于 BJAB-luc 细胞（一种经萤光素酶报告基因转染的 EBV 阴性伯基特氏淋巴瘤 (Burkitt's lymphoma) 细胞系）、Ramos 细胞 (ATCC,Manassas,VA,CRL-1923)、SuDHL-4 细胞 (DSMZ,Braunschweig,Germany,AAC

495)、DoHH2 细胞（参见 Kluin-Neilemans,H.C.et al.,Leukemia 5:221-224(1991)，及 Kluin-Neilemans,H.C.et al.,Leukemia 8:1385-1391(1994))、Granta-519 细胞（参见 Jadayel,D.M.et al,Leukemia 11(1):64-72(1997))。在某些实施方案中，通过皮下注射或通过移植入合适的位点（诸如乳房脂肪垫），将人肿瘤细胞导入合适的免疫受损的非人动物。

[1531] 2. 结合测定法和其它测定法

[1532] 一方面，对抗 CD79b 抗体测试其抗原结合活性。例如，在某些实施方案中，对抗 CD79b 抗体测试其结合在细胞表面上表达的 CD79b 的能力。可以将 FACS 测定法用于此类测试。

[1533] 一方面，可以将竞争测定法用于鉴定与鼠 MA79b 抗体、人源化 MA79b.v17 抗体和 / 或人源化 MA79b.v18 和 / 或人源化 MA79b.v28 和 / 或人源化 MA79b.v32 抗体竞争结合 CD79b 的单克隆抗体。在某些实施方案中，这样的竞争性抗体与鼠 MA79b 抗体、人源化 MA79bv.17 抗体和 / 或人源化 MA79b.v18 抗体和 / 或人源化 MA79b.v28 和 / 或人源化 MA79b.v32. 结合相同的表位（例如线性表位或构象表位）。例示性的竞争测定法包括但不限于常规测定法，诸如 Harlow and Lane(1988)Antibodies:A Laboratory Manual ch.14(Cold Spring Harbor Laboratory,Cold Spring Harbor,NY) 中所提供的。定位抗体所结合表位的详细的例示性方法见 Morris(1996)“Epitope Mapping Protocols,”于 :Methods in Molecular Biology vol.66(人 a Press,Totowa,NJ)。若两种抗体各自阻断彼此 50％或更多的结合，则说这两种抗体结合相同表位。

[1534] 在一种例示性的竞争测定法中，将固定化的 CD79b 在包含能结合 CD79b 的第一经标记抗体（例如鼠 MA79b 抗体、人源化 MA79b.v17 抗体和 / 或人源化 MA79b.v18 抗体和 / 或人源化 MA79b.v28 和 / 或人源化 MA79b.v32) 和要测试其与第一抗体竞争结合 CD79b 的第二未标记抗体的溶液中温育。所述第二抗体可以存在于杂交瘤上清液中。作为对照，将固定化的 CD79b 在包含第一经标记抗体但没有第二未标记抗体的溶液中温育。在容许第一抗体结合 CD79b 的条件下温育后，除去过量的未结合抗体，并测量与固定化的 CD79b 结合的标记物的量。如果测试样品中与固定化 CD79b 结合的标记物的量相对于对照样品有实质性降低，那么这指示所述第二抗体与所述第一抗体竞争结合 CD79b。在某些实施方案中，固定化的 CD79b 存在于细胞表面上或得自在其表面上表达 CD79b 的细胞的膜制备物中。

[1535] 一方面，纯化的抗 CD79b 抗体可以通过一系列测定法进一步表征，包括但不限于 N- 末端测序、氨基酸分析、非变性大小排阻、高压液相层析 (HPLC)、质谱、离子交换层析和木瓜蛋白酶消化。

[1536] 在一个实施方案中，本发明涵盖了改良的抗体，其具有一些但非所有效应器功能，这使之成为其中抗体体内半衰期是重要的但某些效应器功能（诸如补体和 ADCC) 不是必需的或有害的许多应用的期望候选物。在某些实施方案中，测量抗体的 Fc 活性以确保只保留了期望的特性。可进行体外和 / 或体内细胞毒性测定法来证实 CDC 和 / 或 ADCC 活性的降低 / 消除。例如，可以进行 Fc 受体 (FcR) 结合测定法来确认抗体缺乏 FcγR 结合（从此有可能缺乏 ADCC 活性），但保留 FcRn 结合能力。介导 ADCC 的主要细胞，NK 细胞，只表达 FcγRIII，而单核细胞表达 FcγRI、FcγRII 和 FcγRIII。Ravetch and Kinet,Annu.Rev.Immunol.9:457-92(1991) 第 464 页表 3 总结了造血细胞上的 FcR 表达。美国专利

No.5,500,362 或 5,821,337 中记载了评估感兴趣分子的 ADCC 活性的体外测定法的实例。可用于此类测定法的效应细胞包括外周血单个核细胞 (PBMC) 和天然杀伤 (NK) 细胞。或者 / 另外,可以在体内评估感兴趣分子的 ADCC 活性,例如在动物模型中,诸如 Clynes et al.PNAS(USA)95:652-656(1998) 中所披露的。还可以进行 C1q 结合测定法来证实抗体不能结合 C1q 及从此缺乏 CDC 活性。为了评估补体激活,可进行 CDC 测定法,例如如 Gazzano-Santoro et al.,J.Immunol.Methods 202:163(1996) 中所记载的。还可以使用本领域知道的方法进行 FcRn 结合和体内清除 / 半衰期测定。

[1537] 提供下列实施例仅仅为了例示目的,而非意图以任何方式限制本发明的范围。

[1538] 在此完整收入本说明书中引用的所有专利和文献作为参考。

实施例

[1539] 除非另有说明,实施例中提及的商品化试剂依照制造商的说明书使用。实施例中使用的抗体包括商品化抗体,包括但不限于抗 CD79b(购自 Biomeda(Foster City,CA) 或 BDbioscience(San Diego,CA) 或 Ancell(Bayport,MN) 的抗体)、抗 CD79b(由 1993 年 7 月 20 日保藏于 ATCC 的杂交瘤 HB11413 生成)和嵌合抗 CD79b 抗体(包含来自由 1993 年 7 月 20 日保藏于 ATCC 的杂交瘤 HB11413 生成的抗体的可变域)。下文实施例和整篇说明书中以 ATCC 编号所鉴别的那些细胞的来源是美国典型培养物保藏中心 (American Type Culture Collection,VA)。

[1540] 实施例 1 :人源化抗 CD79b 抗体的生成

[1541] 残基编号依照 Kabat(Kabat et al.,Sequences of proteins of immunological interest,5th Ed.,Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD(1991))。使用单字母氨基酸缩写。使用 IUB 代码代表 DNA 简并性 (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)。

[1542] A. 人源化抗 CD79b 抗体嫁接物

[1543] 生成了多种人源化抗 CD79b 抗体。将来自鼠 MA79b 抗体 (MA79b)(Roswell Park Cancer Institute ;Okazaki et al.,Blood,81:84-94(1993)) 的 VL 和 VH 域与人共有 VLκI(huKI) 和人亚组 III 共有 VH(huIII) 域比对。为了生成 HVR 嫁接物,使用有 3 个位置 (R71A、N73T 和 L78A) 与人亚组 III 共有 VH 域不同的受体 VH 框架 (Carter et al.,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 89:4285(1992))。将来自鼠 MA79b(MA79b) 的高变区改造入受体人共有框架以生成 MA79b 的直接 HVR 嫁接物(在本文中称作“MA79b 嫁接物”或“MA79b- 嫁接物”或“MA79b 嫁接的‘人源化’抗体”或“huMA79b- 嫁接物”)。在 VL 域中,将下列区域嫁接至人共有受体 :第 24-34 位 (L1)、第 50-56 位 (L2) 和第 89-97 位 (L3)(图 7A-7B)。在 VH 域中,嫁接第 26-35 位 (H1)、第 49-65 位 (H2) 和第 93-102 位 (H3)(图 8A-8B)。MacCallum 等人 (MacCallum et al.,J.Mol.Biol.,262:732-745(1996)) 分析了抗体和抗原复合物晶体结构,发现重链的第 49、93 和 94 位是接触区的一部分,如此包括在将抗体人源化时 HVR-H2 和 HVR-H3 的定义中。

[1544] 直接嫁接物变体 (huMA79b- 嫁接物 (graft)) 是通过 Kunkel 诱变生成的,作为噬菌体上展示的 Fab 和作为 IgG 这两种形式,每个高变区使用分开的寡核苷酸。通过 DNA 测

序评估了正确的克隆。

[1545] B. 人源化抗 CD79b 抗体嫁接变体

[1546] 使用噬菌体文库生成了在 MA79b 嫁接的“人源化”抗体的高变区中包括突变多样性的抗 CD79b 抗体嫁接变体。抗 CD79b 抗体嫁接变体包括 HVR 中的单一位置变异（图 9）或 HVR 中多个位置变异（图 10）。

[1547] C. 噬菌体选择

[1548] 为了噬菌体选择，将 CD79b 的胞外结构域 ($huCD79b_{ecd}$)(2μg/ml) 在 PBS 中在 MaxiSorp 微量滴定板 (Nunc) 上于 4℃固定化过夜。将板用酪蛋白封闭剂 (Pierce) 封闭至少 1 小时。自培养物上清液收获噬菌体并在含有 0.5% BSA 和 0.05% Tween 20 的 PBS(PBSBT) 中重悬浮。添加噬菌体文库并选择噬菌体 2 小时后，将微量滴定板用含有 0.05% Tween 20 的 PBS(PBST) 彻底清洗以除去未结合的噬菌体，并通过将孔与 100mM HCl 一起温育 30 分钟来洗脱结合的噬菌体。后续轮次的选择中，通过增加用 PBST 清洗的次数或通过洗脱前与可溶性 $huCD79b_{ecd}$ 一起温育逐渐延长的时间，可以提高选择严格性。

[1549] 将洗脱的噬菌体用 1M Tris,pH 8 中和，并使用 XL1-Blue 细胞和 M13/KO7 辅助噬菌体通过在 2YT,50μg/ml 羧苄青霉素中于 37℃培养过夜来扩增。将自含有靶物的孔洗脱的噬菌体的滴度与自含有非靶物的孔回收的噬菌体的滴度比较以评估富集情况。

[1550] D.Fab 生成和 IgG 生成

[1551] 为了表达 Fab 蛋白质以测量亲和力，将终止密码子引入噬菌体展示载体中重链与 g3 之间。将克隆转化入大肠杆菌 34B8 细胞，并在完全 C.R.A.P. 培养基中于 30℃培养 (Presta et al.Cancer Res.57:4593-4599(1997))。通过离心收获细胞，重悬于 PBS、100μM PMSF、100μM 苯甲脒、2.4mM EDTA，并用微量流化仪破碎。用蛋白 G 亲和层析纯化 Fab。

[1552] 出于筛选目的，首先在 293 细胞中生成 IgG 变体。使用 FuGene 系统将编码 VL 和 VH 的载体 (25μg) 转染入 293 细胞。将 500μl FuGene 与 4.5ml 不含 FBS 的 DMEM 培养基混合，并于室温温育 5 分钟。将每条链 (25μg) 添加至此混合物并于室温温育 20 分钟，然后转移至烧瓶，用于于 37℃在 5% CO_2 中转染过夜。次日，取出含有转染混合物的培养基，并更换成 23ml 含有 0.1ml/L 痕量元素 (A0934) 和 10mg/L 胰岛素 (A0940) 的 PS04 培养基。将细胞再温育 5 天，之后通过以 1000rpm 离心 5 分钟来收获培养基并使用 0.22μm 低蛋白质结合滤器无菌过滤。在每 125ml 培养基添加 2.5ml 0.1% PMSF 后，样品可以保存于 4℃。

[1553] E. 亲和力测定 (Biacore 分析）

[1554] 为了测定 MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体的亲和力，在 CHO 细胞中单独的 ($huCD79b_{ecd}$) 或作为 Fc 融合物 ($huCD79b_{ecd}$-Fc) 表达人 CD79b 的胞外结构域，并通过常规手段纯化。另外，通过常规手段合成 16 个氨基酸的含有 MA79b 表位的肽 (ARSEDRYRNPKGSACK)(SEQ ID NO:16)。

[1555] MA79b 抗体表位（在图 19 中标示为“测试肽”）的表征先前记载于 2006 年 8 月 3 日提交的美国申请 No.11/462,336。MA79b 的表位位于远离跨膜结构域的胞外肽区域中，而且在全长和截短形式的人 CD79b 中存在 (Cragg,Blood,100(9):3068-76(2002))，这在正常和恶性 B 细胞中已有记载 (Hashimoto,S.etal.,Mol.Immunol.,32(9):651-9(1995)；Alfarano et al.,Blood,93(7):2327-35(1999))。截短形式的 CD79b 缺少整个胞外 Ig 样结构域（图 19 中框示了剪接截短形式的 CD79b 中不存在的胞外 Ig 样结构域）。

[1556] 通过表面等离振子共振测量了 MA79b、MA79b 嫁接的“人源化”抗体或 MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体的 Fab 和 IgG 变体对固定化 huCD79b$_{ecd}$ 或 huCD79b-Fc 或 16 个氨基酸的含有 MA79b 表位的肽的结合。亲和力测定是使用 BIAcoreTM-2000 通过表面等离振子共振实施的。在 10mM 乙酸钠 pH 4.8 中在 CM5 传感器芯片上固定化抗原 huCD79b$_{ecd}$ 或 huCD79b-Fc(大约 50-200RU)。由于较大的亲合效应,亲和力测量对固定化的 huCD79b$_{ecd}$ 的量敏感。因为这个原因,将在不同日运行的样品测定的亲和力相对于作为标准品一起运行的 MA79b 标准化。在测量对 16 个氨基酸的含有 MA79b 表位的肽 (ARSEDRYRNPKGSACK)(SEQ ID NO:16) 的结合的实验中,在链霉亲和素包被的传感器芯片上捕捉生物素化的肽(大约 20RU)。以 30μL/min 流速注射纯化的 MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体 (Fab 或 IgG 形式)(在 PBST 中 2 倍连续稀释,0.5 至 1000nM)。每份样品分析 4 分钟结合和 10 分钟解离。每次注射后,使用 10mM 甘氨酸 pH 1.7 再生芯片。

[1557] 通过自 MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体 (Fab 或 IgG 形式)流动室减去对照流动室来修正结合响应。使用同时拟合 k_{on} 和 k_{off} 的 1:1 朗格缪尔 (Languir) 模型来进行动力学分析。

[1558] F. 结合分析 (FACS 分析)

[1559] 为了进一步测定 MA79b 嫁接的“人源化”抗体或抗体变体的 Fab 变体的结合,使用 FACS 分析分析了 Fab 和 / 或 IgG 变体对 DoHH-2 细胞的结合。另外,使用 FACS 分析分析了 MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体对 BJAB- 萤光素酶细胞的结合。

[1560] 为了 MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体的 Fab 变体 (MA79b 嫁接的“人源化”抗体 (IgG 形式用作对照)) 的 FACS 分析,首先将 DoHH-2 细胞 (1x 10^6,在 100μl 体积中)在有或无 1μg 初始小鼠抗 CD79b 单克隆抗体 (MA79b) 的情况中温育 30 分钟,之后添加 1μg 各种 Fab 变体(或对照抗体)。PE 偶联的小鼠抗人 Ig,κ 轻链(克隆 G20-193,BD Biosciences,San Diego,CA) 用作检测二抗,因为所有 Fab 变体都携带 κ 轻链而 DoHH-2 细胞不在细胞表面上表达 κ 轻链。

[1561] 为了 MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体的 IgG 变体 (IgG 形式的 chMA79b 用作对照)的其它 FACS 分析,每百万个 BJAB- 萤光素酶细胞滴定 1.0μg、0.1μg 或 0.01μg 抗体。PE 偶联的小鼠抗人 Ig 用作检测二抗。

[1562] G. 亲和力测定 (Scatchard 分析)

[1563] 为了进一步测定在 HVR-L2 和 HVR-H3 中具有变化的 IgG 变体 (huMA79b L2/H3) 的结合,分析了碘化 IgG 变体对表达人 CD79b 和猕猴 CD79b 的 BJAB 细胞的结合并实施了 Scatchard 分析。

[1564] 为了 Scatchard 分析,在存在稳定表达猕猴 CD79b 和内源人 CD79b 的转染 BJAB 系的情况中分别使 0.5nM I^{125} 标记的 MA79b 或 huMA79b L2/H3 与未标记的 MA79b 或 huMA79b L2/H3 竞争,范围为 50 至 0.02nM(12 步 1:2 连续稀释)。于 4℃温育 4 小时后,清洗细胞并通过伽马计数仪 (1470WIZARD 自动伽马计数仪 ;Perkin Elmer,Walthem,MA) 读取细胞沉淀物计数。所有点进行一式三份,并计数 10 分钟。将平均 CPM 用于使用 New Ligand(Genentech,South San Francisco,CA) 程序进行的 Kd 计算。

[1565] 结果和讨论

[1566] A. 关于人源化抗 CD79b 抗体生成的结果

[1567] 用于生成人源化抗 CD79b 抗体的人受体框架包含共有人 κ I VL 域和人亚组 III 共有 VH 域变体。变体 VH 域相对于人共有具有 3 处变化 :R71A、N73T 和 L78A。将 MA79b 的 VL 和 VH 域与人 κ I 和亚组 III 域比对 ;鉴定每个 HVR,然后嫁接入人受体框架以生成 HVR 嫁接物,其能在噬菌体上展示成 Fab(图 7A-7B 和 8A-8B)。

[1568] 展示 Fab 形式 MA79b- 嫁接物的噬菌体结合至固定化 $huCD79b_{ecd}$(数据未显示)。然而,当 huMA79b- 嫁接物序列表达成 IgG 时,其对 $huCD79b_{ecd}$ 的亲和力的 FACS 分析指明结合亲和力降低超过 100 倍 (数据未显示) 且 Biacore 分析指明损失超过 50 倍 (图 11)。

[1569] 1. CDR 修复

[1570] 鉴定了能够结合固定化 $huCD79b_{ecd}$ 的、具有下列序列变化的 MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体。

[1571] 在含有单一位置变化的文库中只观察到靶向 VL 中 HVR 的序列变化,显示于图 9(L1 突变 :Q27K(SEQ ID NO:17 ;SPL-2 突变)、(L2 突变 :L54R(SEQ ID NO:18)、E55K(SEQ ID NO:19)) 和 (L3 突变 :E93S(SEQ ID NO:20 ;SPL-5 突变)、E93K(SEQ ID NO:21))。

[1572] 在含有多个位置变化的文库中只观察到靶向 L2、L3、H1 和 H3 中 HVR 的序列变化,显示于图 10(L2 突变 :S52R、N53K、E55G 和 S56R(SEQ ID NO:22 ;L2-2 突变) ;N53R(SEQ ID NO:23) ;S52R、N53K、E55G 和 S56N(SEQ ID NO:24) ;S52R、N53K、E55K 和 S56R(SEQ ID NO:25) ;S52R、N53Y、E55K 和 S56R(SEQ ID NO:26 ;L2-29 突变) ;S52R、N53K 和 E55K(SEQ ID NO:27) ;S52R、N53K 和 E55A(SEQ ID NO:28) ;S52G、N53I、E55A 和 S56R(SEQ ID NO:29) ;S52R、N53K、E55R(SEQ ID NO:30) ;S52R、N53K 和 E55G(SEQ ID NO:31 ;L2-38 突变) ;S52R、N53H、E55K 和 S56R(SEQ ID NO:32) ;A51S、S52R、N53Y、E55S 和 S56R(SEQ ID NO:33) ;A51G、N53K、E55L 和 S56R(SEQ ID NO:34) ;L54R 和 E55K(SEQ ID NO:35) ;N53K 和 E55G(SEQ ID NO:36) ;S52R、N53Y、E55R 和 S56R(SEQ ID NO:37) ;S52R、N53R、E55R 和 S56T(SEQ ID NO:38) ;S52R、N53R、E55G 和 S56R(SEQ ID NO:39) ;S52R、N53Q、L54R、E55K 和 S56R(SEQ ID NO:40) ;S52R、N53K、E55L 和 S56R(SEQ ID NO:41) ;S52R、N53K、E55K 和 S56N(SEQ ID NO:42) ;S52R、N53K、E55G 和 S56T(SEQ ID NO:43) ;S52R、N53K、E55G 和 S56G(SEQ ID NO:44) ;及 S52R、N53K、E55A 和 S56R(SEQ ID NO:45))、(L3 突变 :E93A(SEQ ID NO:46) ;E93Q(SEQ ID NO:47) ;无突变 (SEQ ID NO:48) ;E93D(SEQ ID NO:49) ;E93L(SEQ ID NO:50) ;Q89N、Q90N、E93G 和 T97N(SEQ ID NO:51) ;Q90P、S91D、D94A 和 L96R(SEQ ID NO:52) ;Q89D、S91R 和 E93A(SEQ ID NO:53))、(H1 突变 :T28P、S30T、S31R 和 E35S(SEQ ID NO:54) ;T28P、S30R 和 E35Q(SEQ ID NO:55) ;T28P、S30T 和 E35N(SEQ ID NO:56) ;T28P、S30T、S31R 和 E36N(SEQ ID NO:57 ;H1-6 突变) ;S30N、S31R 和 E35N(SEQ ID NO:58) ;T28S 和 S30K(SEQ ID NO:59) ;G26P、T28S、F29L、S30C、S31T、W33F 和 E35D(SEQ ID NO:60) ;T28Y 和 S30T(SEQ ID NO:61) ;T28P、S30G、S31R、I34V 和 E35N(SEQ ID NO:62) ;S30K 和 S31K(SEQ ID NO:63) ;T28P、S30T 和 E35Q(SEQ ID NO:64) ;T28P、S30R 和 S31R(SEQ ID NO:65) ;T28P、F29V、S30G、S31R 和 E35S(SEQ ID NO:66) ;T28P、S30N、S31R 和 E35N(SEQ ID NO:67 ;H1-1 突变) ;T28G、S30T 和 E35S(SEQ ID NO:68) ;S30T、I34L 和 E35S(SEQ ID NO:69) ;S30T(SEQ ID NO:70) ;S31G 和 E35N(SEQ ID NO:71) ;S30R、S31R 和 E35N(SEQ ID NO:72) ;T28S、S30R 和 E35N(SEQ ID NO:73) ;T28S、S30R、S31R 和 E35N(SEQ ID NO:74) ;T28S、S30R 和 S31R(SEQ ID NO:75) ;T28S、S30P、I34L 和 E35Q(SEQ ID NO:76) ;T28P、S30T 和 S31R(SEQ ID NO:77) ;T28P 和

S31G(SEQ ID NO:78)；T28P、S30R 和 E35S(SEQ ID NO:79)；T28P、S30R 和 E35N(SEQ ID NO:80)；T28P、S30R 和 S31G(SEQ ID NO:81)；T28P、S30N 和 S31R(SEQ ID NO:82)；T28P、S30N、S31G 和 E35N(SEQ ID NO:83)；T28N、F29V、I34L 和 E35S(SEQ ID NO:84)；Y27F、T28P、S30T 和 E35S(SEQ ID NO:85)；和 Y27F、T28P、S30N、S31R 和 E35N(SEQ ID NO:86))及(H3 突变：V98I 和 F100L(SEQ ID NO:87；H3-12 突变)；无突变(SEQ ID NO:88)；Y99K 和 F100L(SEQ ID NO:89)；F100L(SEQ ID NO:90)；V98I(SEQ ID NO:91)；V98F、Y99C 和 F100L(SEQ ID NO:92)；F100L(SEQ ID NO:93)；V98I、Y99R 和 F100L(SEQ ID NO:94；H3-10 突变)；V98I、Y99K 和 F100L(SEQ ID NO:95)；V98I 和 Y99R(SEQ ID NO:96)；V98I(SEQ ID NO:97)；D101S(SEQ ID NO:98)；Y99V 和 F100L(SEQ ID NO:99)；Y99R 和 F100L(SEQ ID NO:100)；Y99R(SEQ ID NO:101)；Y99F 和 F100L(SEQ ID NO:102)；V98I 和 F100L(SEQ ID NO:103)；V98I(SEQ ID NO:104)；V96R、Y99C 和 F100L(SEQ ID NO:105)；及 V96I(SEQ ID NO:106))。

[1573] 将选定克隆重定形式成 Fab(用于通过 FACS 进行的分析)和 IgG(用于通过 Biacore 和 Scatchard 进行的进一步分析)。

[1574] a. 亲和力测定(Biacore 分析)

[1575] 如显示 Biacore 分析的图 11 所示，此 CDR 修复办法鉴定了许多改进 MA79b 嫁接的“人源化”抗体的亲和力的各序列变化。表面等离振子共振测定法显示，根据 Biacore 分析的测定，在结合固定化 $huCD79b_{ecd}$ 或 $huCD79b_{ecd}$-Fc 或 16 个氨基酸的含有 MA79b 表位的肽时，虽然所测试的具有单一 HVR 变化的变体无一具有与 MA79b 相似的亲和力，但是在 HVR-L2 和 HVR-H3 中鉴定出的变化组合(MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体 L2/H3；在本文中也称作 huMA79bL2/H3)导致亲和力与 MA79b 相似的变体(图 11)。

[1576] MA79b 对抗原($huCD79b_{ecd}$-Fc)的单体结合(Fab)和二聚体结合(IgG)的分析(图 11，第 1 行，比较 Fab 与 IgG 列)提示亲和力改进的变体中可能缺少 MA79b 中存在的 100 倍亲合成分(avidity component)。具体而言，在与 MA79b 相比在单体结合方面展示 5 倍改进的 MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体 L2-2(在本文中也称作 huMA79b L2-2)中(图 11，第 1 和 3 行，比较 Fab 列)，在将 huMA79b L2-2 重定形式成 IgG 后没有获得明显亲和力(图 11，第 4 行，比较 Fab 与 IgG 列)。另外，初始 MA79b HVR 嫁接的“人源化”抗体(huMA79b 嫁接物)展示结合中此亲合成分的损失(图 11，第 2 行，比较 Fab 与 IgG 列)。经由亲合增强结合的能力可能是结合细胞表面抗原中所期望的。

[1577] b. 亲和力测定(Scatchard 分析)

[1578] 正如通过 Scatchard 分析所评估的，此 CDR 修复办法鉴定了许多改进 MA79b 嫁接的“人源化”抗体的亲和力的各序列变化。具体而言，细胞结合测定法显示，根据 Scatchard 分析的测定，MA79b 和 MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体 L2/H3(huMA79b L2/H3)(重定形式成 IgG)结合稳定表达猕猴 CD79b 和内源人 CD79b 的 BJAB 细胞的亲和力分别具有 0.63nM(MA79b；Kd = 0.63±0.14nM)和 0.52nM(huMA79b L2/H3；Kd = 0.52±0.1nM)的 Kd 值(数据未显示)。

[1579] c. 结合测定(FACS 分析)

[1580] 正如通过 FACS 分析所评估的，此 CDR 修复办法鉴定了许多改进 MA79b 嫁接的“人源化”抗体(huMA79b 嫁接物)对 DoHH-2 细胞的结合的各序列变化(数据未显示)。具体而言，自 SP 和 6SR 文库鉴定出的 Fab 变体(L2-2、H3-10 和 H1-1 突变)对 DoHH-2 细胞的

FACS 分析显示了 Fab 变体和 huMA79b 嫁接物（重定形式成 IgG）对 DoHH-2 细胞的结合（数据未显示）。另外，Fab 变体的 FACS 分析显示了与鼠抗 CD79b 单克隆抗体 (MA79b) 一起预温育阻断 Fab 变体对 DoHH-2 细胞的结合（数据未显示）。

[1581] 2. 框架修复

[1582] 在 huMA79b L2/H3 变体的 HVR-L2 中引入的 HVR 序列变化根本不同于那些在任何人种系中观察到的。在体内小鼠异种移植物模型中观察到 huMA79bL2/H3 变体在偶联至 DM1 时有效抑制肿瘤生长（表 9）。由于 huMA79b L2/H3 变体对抗原的单体结合 (Fab) 和二聚体结合 (IgG) 的分析显示亲合力 (avidity) 的损失（图 11），因此如下所述实施框架修复。

[1583] 为了探索框架位置在二聚体抗原结合中的作用，构建了“整个框架”位置变体，其中在 MA79bHVR 嫁接的“人源化”抗体 (huMA79b 嫁接物）中引入可能重要的鼠框架位置。根据 Biacore 分析和 Scatchard 分析的评估，缺少任何 HVR 变化的此变体（在图 12 中称作“整个框架”）拥有与嵌合 MA79b 抗体 (chMA79b) 相似的二聚体结合亲和力 (affinity)（图 12）。

[1584] 生成了包括位于 VL 第 4 和 / 或 47 位和 / 或 VH 第 47、48、67、69、71、73、74、78 和 / 或 80 位的鼠框架残基的 IgG 变体以确定维持高亲和力（二聚体结合）所需要的最小框架位置集合 (set)（图 12）。鼠框架残基显示于图 7A-7B(SEQ ID NO:10) 和图 8A-8B(SEQ ID NO:14)。根据 MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体 17(huMA79b.v17)（图 12，标示 17 的行）的证明，发现位于 VL 中第 47 位及 VH 中第 75 和 80 位的框架是不必要的。

[1585] 与变体 17（图 12，标示 17 的列）相比，MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体 18(MA79b.v18；图 12，标示 18 的行）显示出二聚体结合中另外 2 倍的改进（图 12，标示 28 的行），其包括位于 VL 中第 4 位及 VH 中第 48、67、69、71、73 和 78 位的鼠框架残基，且进一步包括 HVR-H3 中的变化（在图 12 中也称作“H3-10”且在上文中描述成 H3-10 突变），包括 V98I、Y99R 和 F100L。

[1586] 为了避免潜在的制造问题，通过将 D28 转变成 Glu（谷氨酸）消除了 MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体 HVR-L1 中潜在的异天冬氨酸形成位点 (Asp-Gly)(D28E；见变体 28；在本文中也称作“huMA79b.v28”；图 12，标示 28 的行）。还耐受 MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体 VL 中为稳定性进行的其它替代，包括 D28 转变成 Ser（丝氨酸）(D28E；见变体 32；在本文中也称作“huMA79b.v32”；图 12，标示 32 的行）。

[1587] 经 Biacore 分析表征了 MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体 28(huMA79b.v28；图 12，标示 28 的行），其：(1) 包括位于 VL 中第 4 位及 VH 中第 48、67、69、71、73 和 78 位的鼠框架残基，(2) 进一步包括 HVR-H3 中的变化（在图 12 中称作“H3-10”且在上文中描述成 H3-10 突变），包括 V98I、Y99R 和 F100L，且 (3) 更进一步包括 HVR-L1 中的变化 (D28E，上文所述）。

[1588] 经 Biacore 分析表征了 MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体 32(MA79b.v32；图 12，标示 32 的行），其：(1) 包括位于 VL 中第 4 位及 VH 中第 48、67、69、71、73 和 78 位的鼠框架残基，(2) 进一步包括 HVR-H3 中的变化（在图 12 中称作“H3-10”且在上文中描述成 H3-10 突变），包括 V98I、Y99R 和 F100L，且 (3) 更进一步包括 HVR-L1 中的变化 (D28S，上文所述）。

[1589] a. 亲和力测定 (Biacore 分析）

[1590] 如显示 Biacore 分析的图 12 所示，此框架修复办法鉴定了许多改进 MA79b 嫁接的“人源化”抗体对 $huCD79b_{ecd}$ 的亲和力的各序列变化。表面等离振子共振测定法显示，

根据 Biacore 分析的测定，在结合固定化 huCD79b$_{ecd}$ 时，MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体 28(huMA79b.v28；具有鼠框架 VL 中第 4 位，VH 中第 48、67、69、71、73 和 78 位，以及 HVR-H3 中 H3-10 突变 (V98I、Y99R 和 F100L(上文也有描述）和 HVR-L1 中 D28E 突变（为了稳定性，见上文所述）；图 12，标示 28 的行）和 MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体 (huMA79b.v32；具有鼠框架 VL 中第 4 位，VH 中第 47、48、67、69、71、73 和 78 位，以及 HVR-H3 中 H3-10 突变 (V98I、Y99R 和 F100L(上文也有描述）和 HVR-L1 中 D28S 突变（为了稳定性，见下文所述）；图 12，标示 32 的行）具有与嵌合 MA79b 抗体 (chMA79b) 相当的亲和力。

[1591] b. 亲和力测定 (Scatchard 分析）

[1592] 正如通过 Scatchard 分析所评估的，与 Biacore 分析类似，此框架修复办法鉴定了许多改进 MA79b 嫁接的“人源化”抗体 (huMA79b 嫁接物）的亲和力的各序列变化。细胞结合测定法显示，根据 Scatchard 分析的测定，MA79b、MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体 28(huMA79b.v28；见图 12，标示 28 的行）(重定形式成 IgG) 和 MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体 32(huMA79b.v32；见图 12，标示 32 的行）结合稳定表达猕猴 CD79b 和内源人 CD79b 的 BJAB 细胞的亲和力分别具有 0.63nM(MA79b；Kd ＝ 0.63±0.14nM)、0.44nM(huMA79b.v28；Kd ＝ 0.44±0.04nM) 和 0.24nM(huMA79b.v32；Kd ＝ 0.24±0.02nM) 的 Kd 值（数据未显示）。

[1593] c. 结合测定 (FACS 分析）

[1594] 正如通过 FACS 分析所评估的，此框架修复办法鉴定了许多改进 MA79b 嫁接的“人源化”抗体 (huMA79b 嫁接物）对 BJAB- 萤光素酶细胞的结合的各序列变化（数据未显示）。具体而言，MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体（变体 huMA79b.v28 和 huMA79b.v32) 的 IgG 变体对 BJAB- 萤光素酶细胞的 FACS 分析显示了对 BJAB- 萤光素酶细胞的结合（数据未显示）。

[1595] B. 关于人源化抗 CD79b 抗体生成的讨论

[1596] 自将 6 种鼠 MA79b HVR(定义为第 24-34 位 (L1)、第 50-56 位 (L2)、第 89-97 位 (L3)、第 26-35 位 (H1)、第 49-65 位 (H2) 和第 93-102 位 (H3)) 嫁接入人共有 κ IVL 和亚组 III VH(含有 A71、T73 和 A78) 开始，使用 CDR 修复来鉴定 HVR 1-6 中改进结合亲和力的变化。图 10 和 11 中鉴定的 HVR 序列变化或这些变化的组合导致亲和力与 MA79b 相似的 MA79b 人源化变体。

[1597] 或者，通过向 huMA79b 嫁接物（其在 VH 第 71、73 和 78 位处包括鼠框架残基）添加 VL 中框架第 4 位和 VH 中第 48、67 和 69 位，使用框架修复来恢复二聚体结合亲合力（图 12；MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体 17(huMA79b.v17))。通过在 HVR-H3 中添加 3 处变化：V98I，Y99R 和 F100L，进一步增强了这些框架突变变体对 huCD79b$_{ecd}$ 抗原的亲和力（图 12；MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体 18(huMA79b.v18))。用 D28E 突变消除了 HVR-L1 中的一个潜在的异天冬氨酸形成位点（图 12；MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体 28(huMA79b.v28))。

[1598] 实施例 2：抗 CD79b 抗体药物偶联物 (ADC) 的生成

[1599] 为了测试 MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体的 IgG 变体的功效，将 MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体偶联至药物，诸如 DM1。偶联至 DM1 的变体包括在 HVR-L2 和 HVR-H3 中具有变化的变体 (huMA79b L2/H3)，即 huMA79b.v17、huMA79b.v18、huMA79b.v28 和 huMA79b.v32。

[1600] 用于为抗 CD79b 抗体生成抗体药物偶联物 (ADC) 的药物包括美登木素生物碱 DM1 和多拉司他汀 10 衍生物 monmethylauristatin E(MMAE) 和 monomethylauristatin F(MMAF)(US 2005/0276812 ;US 2005/0238649 ;Doronina et al.,Bioconjug. Chem.,17:114-123(2006) ;Doronina et al.,Nat.Biotechnol.,21:778-784(2003) ; Erickson et al.,Cancer Res.,66:4426-4433(2006), 都通过述及完整收入本文)。对生成 ADC 有用的接头是 BMPEO、SPP 或 SMCC(在本文中也称作“MCC”)(用于 DM1) 和 MC 或 MC-vc-PAB(用于 MMAE 和 MMAF)。对于 DM1,使用接头试剂 SMCC 经由赖氨酸的 ε- 氨基将抗体连接至 DM1 的硫醇基。或者,对于 DM1,使用 SPP 接头经由赖氨酸的 ε- 氨基将抗体连接至 DM1。SPP(N- 琥珀酰亚氨基 4-(2'- 吡啶基二硫代) 戊酸酯) 与赖氨酸的 ε- 氨基起反应,在蛋白质上留下反应性 2- 吡啶基二硫化物接头。凭借 SPP 接头,在与游离硫氢基 (例如 DM1) 反应后,吡啶基被置换,留下经可还原的二硫键附着的 DM1。经 SPP 接头附着的 DM1 在还原性条件 (即例如在细胞内) 被释放,而经 SMCC 接头附着的 DM1 对还原性条件中的切割有抗性。另外,如果 ADC 被内化并靶向溶酶体,引起赖氨酸 -N^{ε}-DM1(其是有效的抗有丝分裂剂) 释放的话,SMCC-DM1ADC 诱导细胞毒性,而且在自细胞释放时,赖氨酸 -N^{ε}-DM1 是无毒的 (Erickson et al.,Cancer Res.,66:4426-4433(2006))。对于 MMAE 和 MMAF,通过马来酰亚氨基己酰基 - 缬氨酸 - 瓜氨酸 (vc)- 对氨基苄氧羰基 (MC-vc-PAB) 经由半胱氨酸将抗体连接至 MMAE 或 MMAF。对于 MMAF,或者,通过马来酰亚氨基己酰基 (MC) 接头经由半胱氨酸将抗体连接至 MMAF。MC-vc-PAB 接头能被胞内蛋白酶切割,诸如组织蛋白酶 B,而且在切割时,释放游离药物 (Doronina et al.,Nat.Biotechnol.,21:778-784(2003)),而 MC 接头对胞内蛋白酶的切割有抗性。

[1601] 与 US 2005/0276812 中记载的规程类似,使用 SMCC 和 DM1 生成了抗 CD79b 的抗体药物偶联物 (ADC)。将抗 CD79b 的纯化的抗体更换缓冲液入含有 50mM 磷酸钾和 2mM EDTA,pH 7.0 的溶液中。将 SMCC(Pierce Biotechnology,Rockford,IL) 在二甲基乙酰胺 (DMA) 中溶解并添加至抗体溶液以得到最终的 SMCC/Ab 摩尔比 10:1。容许反应在混合中于室温进行 3 小时。随后在含 150mM NaCl 和 2mM EDTA,pH 6.0 的 35mM 柠檬酸钠中平衡的 GE Healthcare HiTrap 脱盐柱 (G-25) 上纯化 SMCC 修饰的抗体。将在 DMA 中溶解的 DM1 添加至 SMCC 抗体制备物以得到 DM1 对抗体摩尔比 10:1。容许反应在混合中于室温进行 4-20 小时。将 DM1 修饰的抗体溶液用 20 倍体积的 PBS 透析以除去未反应的 DM1,无菌过滤,并保存于 4℃。通常,经此方法实现 40-60％的抗体产率。根据凝胶过滤和激光散射的评估,通常 >95％的制备物是单体。由于 DM1 在 252nm 处具有最大吸收,因此可以通过 252 和 280nm 处的差异吸收测量来确定结合至抗体的药物量。通常,药物对抗体的比率为 3 至 4。

[1602] 与 US 2005/0276812 中记载的规程类似,可以使用 SPP-DM1 接头生成本文所述抗 CD79b 抗体的抗体药物偶联物 (ADC)。将抗 CD79b 的纯化的抗体更换缓冲液入含有 50mM 磷酸钾和 2mM EDTA,pH 7.0 的溶液中。将 SPP(Immunogen) 在 DMA 中溶解并添加至抗体溶液以得到最终的 SPP/Ab 摩尔比大约 10:1,精确比率取决于期望的抗体药物载荷。10:1 比率通常会导致大约 3-4 的药物对抗体比。容许 SPP 在混合中于室温反应 3-4 小时。随后在含 150mMNaCl 和 2mM EDTA,pH 6.0 的 35mM 柠檬酸钠中或磷酸盐缓冲盐水 pH 7.4 中平衡的 GE Healthcare HiTrap 脱盐柱 (G-25) 上纯化 SPP 修饰的抗体。将在 DMA 中溶解的 DM1 添加至 SPP 抗体制备物以得到 DM1 对抗体摩尔比 10:1,这导致可用的 SPP 接头相对于抗体 3-4

倍摩尔过量。容许与 DM1 的反应在混合中于室温进行 4-20 小时。将 DM1 修饰的抗体溶液用 20 倍体积的 PBS 透析以除去未反应的 DM1，无菌过滤，并保存于 4℃。通常，用此方法实现 40-60％或更高的抗体产率。根据凝胶过滤和激光散射的评估，通常 >95％的抗体药物偶联物是单体。正如关于 SMCC-DM1 偶联物的制备所述（上文所述），通过 252 和 280nm 处的差异吸收测量来确定所结合的药物的量。

[1603] 与 US 2005/0238649 中记载的规程类似，还可以使用 MC-MMAF、MC-MMAE、MC-val-cit(vc)-PAB-MMAE 或 MC-val-cit(vc)-PAB-MMAF 药物接头生成本文所述抗 CD79b 抗体的抗体药物偶联物 (ADC)。将纯化的抗 CD79b 抗体在 500mM 硼酸钠和 500mM 氯化钠 pH 8.0 中溶解并用过量的 100mM 二硫苏糖醇 (DTT) 进一步处理。于 37℃温育大约 30 分钟后，更换缓冲液，即在 Sephadex G25 树脂上用含 1mM DTPA 的 PBS 洗脱。检查硫醇 / 抗体值，即根据溶液在 280nm 处的吸光度测定还原的抗体浓度，通过与 DTNB(Aldrich,Milwaukee,WI) 反应并测定 412nm 处的吸光度测定硫醇浓度。将还原的抗体在 PBS 中溶解，在冰上冷却。将 DMSO 中的药物接头（例如 MC-val-cit(vc)-PAB-MMAE）在乙腈和水中溶解，并添加至冷却的、PBS 中的还原的抗体。温育 1 小时后，添加过量的马来酰亚胺以淬灭反应并给任何未反应的抗体硫醇基加帽。将反应混合物通过离心超滤来浓缩，并将抗体药物偶联物通过经 PBS 中 G25 树脂的洗脱来纯化和脱盐，在无菌条件下经 0.2μm 滤器过滤，并冷冻贮存。

[1604] 将抗体药物偶联物（使用本文所述抗 CD79b 抗体）在测定培养基中稀释至 2x 10μg/ml。偶联物是用交联接头 SMCC 连接的（或者，对于 SPP，二硫化物接头可用于美登木素生物碱 DM1 毒素）（参见 US 2005/0276812 和 US 2005/0238649）。另外，对于多拉司他汀 10 衍生物，monomethylauristatin E(MMAE) 毒素或 monomethylauristatin F(MMAF) 毒素，可以用 MC- 缬氨酸 - 瓜氨酸 (vc)-PAB 或 MC 来连接偶联物（参见 2005 年 5 月 31 日提交的美国申请 No.11/141,344 和 2004 年 11 月 5 日提交的美国申请 No.10/983,340）。阴性对照包括基于HERCEPTIN®（曲妥单抗）（抗 HER2) 的偶联物 (SMCC-DM1 或 SPP-DM1 或 MC-vc-MMAE 或 MC-vc-MMAF)。阳性对照可包括相当于偶联物加载剂量的游离 L-DM1。在稀释前将样品旋涡震荡以确保均质的混合物。

[1605] 用于药物偶联的抗 CD79b 抗体包括本文所述嵌合 MA79b 抗体 (chMA79b) 和 huMA79b L2/H3 抗体变体和 huMA79b.v17、huMA79b.v18、huMA79b.v28 和 huMA79b.v32（见实施例 1)。用于偶联的其它抗体可包括本文所述任何抗体（见实施例 1)。

[1606] 实施例 3：体内肿瘤细胞杀伤测定法

[1607] A. 异种移植物

[1608] 为了测试在 HVR-L2 和 HVR-H3 中有变化的 MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体的 IgG 变体 (huMA79b L2/H3) 的功效，将 huMA79b L2/H3 变体偶联至 DM1 并分析偶联变体对小鼠中肿瘤的影响。

[1609] 具体而言，可以在多种异种移植物模型中测验抗体使肿瘤消退的的能力，所述异种移植物模型包括 RAMOS 细胞、BJAB 细胞（含有 t(2;8)(p112;q24)(IGK-MYC) 易位、突变的 p53 基因且埃巴二氏病毒 (EBV) 阴性的伯基特氏淋巴瘤 (Burkitt's lymphoma) 细胞系)(Drexler,H.G.,The Leukemia-Lymphoma Cell Line Facts Book,San Diego:Academic Press,2001)、Granta 519 细胞（含有导致细胞周期蛋白 D1(BCL1) 过表达的 t(11;14)(q13;q32)(BCL1-IGH) 易位、含有 P16INK4B 和 P16INK4A 删除且 EBV 阳性的套细胞淋

巴瘤细胞系)(Drexler,H.G.,The Leukemia-Lymphoma Cell Line Facts Book,San Diego:Academic Press,2001)、U698M 细胞(成淋巴细胞淋巴肉瘤 B 细胞系)(Drexler,H.G.,The Leukemia-Lymphoma Cell Line Facts Book,San Diego:Academic Press,2001)和 DoHH2 细胞(含有导致 Ig 重链驱动的 Bcl-2 过表达的滤泡性淋巴瘤特征性易位 t(14;18)(q32;q21)、含有 P16INK4A 删除、含有 t(8;14)(q24;q32)(IGH-MYC)易位且 EBV 阴性的滤泡性淋巴瘤细胞系)(Drexler,H.G.,The Leukemia-Lymphoma Cell Line Facts Book,San Diego:Academic Press,2001)。

[1610] 为了分析 MA79b 嫁接的"人源化"抗体变体的功效,经注射入 CB17ICR SCID 小鼠的体侧给雌性 CB17ICR SCID 小鼠(6-8 周龄,来自 Charles Rivers Laboratories;Hollister,CA)皮下接种 2X 10^7 个 BJAB-萤光素酶细胞或 Granta-519 细胞,并容许异种移植物肿瘤生长至平均 200mm^2。第 0 天指肿瘤平均 200mm^2 的日子,那天施用第一剂或唯一的一剂处理,除非下文明确说明。肿瘤体积是基于二维计算的,使用测径器来测量,并依照公式表述成 mm^3:$V = 0.5a \times b^2$,其中 a 和 b 分别是肿瘤的长径和短径。将自每个实验组收集的数据表述成均值 +SE。以单剂静脉内(i.v.)50μg 至 210μg 抗体连接的药物 /m^2 小鼠(相当于约 1-4mg/kg 小鼠)用 MA79b 嫁接的"人源化"抗体变体或对照抗体-药物偶联物处理多组 10 只小鼠。在整个实验期间每周一次或两次测量肿瘤。在整个实验期间每周一次或两次测量小鼠的体重。在肿瘤体积达到 3000mm^3 之前或在肿瘤显示出即将溃疡的征兆时,对小鼠处以安乐死。所有动物方案都得到了实验动物护理和使用委员会(IACUC)的批准。

[1611] 所使用的、抗体与毒素之间的接头是硫醚交联接头 SMCC(用于 DM1)。别的接头可包括二硫化物接头 SPP 或硫醚交联接头 SMCC(用于 DM1)或 MC 或 MC-缬氨酸-瓜氨酸(vc)-PAB(具有马来酰亚胺构件和对氨基苯基苄基氨甲酰基(PAB)自我牺牲构件的缬氨酸-瓜氨酸(vc)二肽接头试剂)(用于 monomethylauristatin E(MMAE)或 monomethylauristan F(MMAF))。所使用的毒素是 DM1。别的毒素可包括 MMAE 或 MMAF。用于此实验的 CD79b 抗体包括嵌合 MA79b(chMA79b)抗体(如 2006 年 8 月 3 日提交的美国申请 No.11/462,336 中所记载的)以及本文中所描述的 MA79b 嫁接的"人源化"抗体变体(见实施例 1A)。别的抗体可包括商品化抗体,包括抗 CD79b 抗体和由 1993 年 7 月 20 日保藏于 ATCC 的杂交瘤 HB11413 生成的 MA79b 单克隆抗体。

[1612] 阴性对照包括基于抗 HER2(HERCEPTIN® (曲妥单抗))的偶联物(SMCC-DM1)。

[1613] B. 结果

[1614] 1.BJAB-萤光素酶异种移植物

[1615] 在表 9 所示药物偶联物和剂量的 35 天时程里,MA79b 嫁接的"人源化"抗体变体 L2/H3(huMA79b L2/H3 变体)(重定形式成 IgG)和嵌合抗 CD79b 抗体(chMA79b)偶联至 DM1 后(分别为 huMA79b L2/H3-SMCC-DM1 和 chMA79b-SMCC-DM1)显示出与阴性对照 HERCEPTIN® (曲妥单抗)-SMCC-DM1(抗 HER2-SMCC-DM1)相比抑制带 BJAB-萤光素酶肿瘤的 SCID 小鼠中肿瘤生长。对于所有 ADC 和对照,在第 0 天以单剂(如表 9 所示)施用 ADC。具体而言,huMA79b L2/H3-SMCC-DM1 抗体(重定形式成 IgG)和 chMA79b-SMCC-DM1 显著抑制肿瘤生长(图 20)。另外,在表 9 中显示了所测试的小鼠总数中显示出 PR = 部分

消退（其中施药后任何时间的肿瘤体积下降至低于第 0 天测得的肿瘤体积的 50％）或 CR ＝完全消退（其中施药后任何时间的肿瘤体积下降至 0mm^3）的数目。

[1616] 表 9

[1617]

施用的抗体（治疗）	PR	CR	剂量 药物 - DM1 ($\mu g/m^2$)	剂量 抗体 (mg/kg)	药物比 (药物 /抗体)
对照anti-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

[1618] 2. Granta-519 异种移植物

[1619] 在表 10 所示药物偶联物和剂量的 14 天时程里，MA79b 嫁接的“人源化”抗体变体 17、变体 18、变体 28 和变体 32（分别是 huMA79b. v17、huMA79b. v18、huMA79b. v28 和 huMA79b. v32）（重定形式成 IgG）和嵌合抗 CD79b 抗体（chMA79b）偶联至 DM1（分别为 huMA79b. v17-SMCC-DM1、huMA79b. v18-SMCC-DM1、huMA79b. v28-SMCC-DM1、huMA79b. v32-SMCC-DM1 和 chMA79b-SMCC-DM1）后显示出与阴性对照HERCEPTIN®（曲妥单抗）-SMCC-DM1（抗 HER2-SMCC-DM1）相比抑制带 Granta-519 肿瘤的 SCID 小鼠中肿瘤生长。对于所有 ADC 和对照，在第 0 天以单剂（如表 10 所示）施用 ADC。具体而言，huMA79b. v28-SMCC-DM1、huMA79b. v32-SMCC-DM1、huMA79b. v17-SMCC-DM1 和 huMA79b. v18-SMCC-DM1 抗体（重定形式成 IgG）和 chMA79b - SMCC-DM1 显著抑制肿瘤生长（图 21A）。

[1620] 另 外， 用 huMA79b. v28-SMCC-DM1、huMA79b. v32-SMCC-DM1、huMA79b. v17-SMCC-DM1、huMA79b. v18-SMCC-DM1 和 chMA79b-SMCC-DM1 和对照HERCEPTIN®（曲妥单抗）-SMCC-DM1（抗 HER2-SMCC-DM1）处理不导致百分比小鼠体重的降低（图 21B）。此外，在表 10 中显示了所测试的小鼠总数中显示出 PR ＝部分消退（其中施药后任何时间的肿瘤体积下降至低于第 0 天测得的肿瘤体积的 50％）或 CR ＝完全消退（其中施药后任何时间的肿瘤体积下降至 0mm^3）的数目。

[1621] 表 10

[1622]

施用的抗体（治疗）	PR	CR	剂量 药物 - DM1 ($\mu g/m^2$)	剂量 抗体 (mg/kg)	药物比 (药物/抗体)
对照anti-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

[1623] 根据MA79b嫁接的“人源化”抗体ADC显著抑制异种移植物中肿瘤进展的能力，CD79b分子可能是哺乳动物中肿瘤治疗的卓越靶物，所述肿瘤包括B细胞相关癌症，诸如淋巴瘤（即非何杰金氏淋巴瘤）、白血病（即慢性淋巴细胞性白血病）和造血细胞的其它癌症。此外，MA79b嫁接的“人源化”ADC对于降低肿瘤的体内肿瘤生长是有用的，所述肿瘤包括B细胞相关癌症，诸如淋巴瘤（即非何杰金氏淋巴瘤）、白血病（即慢性淋巴细胞性白血病）和造血细胞的其它癌症。

[1624] 实施例4：CD79b抗体共定位

[1625] 为了确定MA79b嫁接物的“人源化”抗体和抗体变体在内化入细胞后被投递至哪里，可以在Ramos细胞系中评估内化入B细胞系中的抗CD79b抗体的共定位研究。LAMP-1是晚期内体和溶酶体（包括MHC II类隔室(MIIC)，这是一种晚期内体/溶酶体样隔室）HLA-DM是MIIC的一种标志物）的一种标志物(Kleijmeer et al.,Journal of Cell Biology,139(3):639-649(1997);Hunziker et al.,Bioessays,18:379-389(1996);Mellman et al.,Annu.Rev.Dev.Biology,12:575-625(1996))。

[1626] 在存在10μg/ml亮肽素(leupeptin)(Roche)和5μM胃蛋白酶抑制剂(Roche)以抑制溶酶体降解的情况中，将Ramos细胞与1μg/ml MA79b嫁接的“人源化”抗体和抗体变体、FcR block(Miltenyi)和25μg/ml Alexa647-运铁蛋白(Molecular Probes)一起在不含碳酸盐的完全培养基(Gibco)于37℃温育3小时。然后将细胞清洗两次，用3%低聚甲醛(Electron Microscopy Sciences)于室温固定20分钟，用50mM NH_4Cl(Sigma)淬灭，用0.4%皂苷/2% FBS/1% BSA透化20分钟，然后与1μg/ml Cy3抗小鼠(Jackson Immunoresearch)一起温育20分钟。然后将反应体系用小鼠IgG(Molecular Probes)封闭20分钟，接着与Image-iT FX信号增强剂(Molecular Probes)一起温育30分钟。最后将细胞与Zenon Alexa488标记的小鼠抗LAMP1(BD Pharmingen)(溶酶体和MIIC(一种溶酶体样隔室，其是MHC II类途径的一部分）二者的一种标志物）一起温育20分钟，并用3% PFA后固定。将细胞重悬在20μl皂苷缓冲液中，并容许它们粘附至聚赖氨酸(Sigma)包被的载玻片，之后用含DAPI的VectaShield(Vector Laboratories)封固盖玻片。为了MIIC或溶

酶体的免疫荧光，将细胞固定，透化并增强，如上所述，然后依照制造商的指令 (Molecular Probes) 在存在过量小鼠 IgG 的情况中用 Zenon 标记的 Alexa555-HLA-DM(BD Pharmingen) 和 Alexa488-Lamp1 共染色。

[1627] 因而，如通过免疫荧光所评估的，MA79b 嫁接的“人源化”抗体或抗体变体与 B 细胞系 MIIC 或溶酶体的共定位可以指示该分子是哺乳动物中肿瘤治疗的卓越药剂，所述肿瘤包括 B 细胞相关癌症诸如淋巴瘤（即非何杰金氏淋巴瘤）、白血病（即慢性淋巴细胞性白血病）和造血细胞的其它癌症。

[1628] 实施例 5 ：半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体的制备

[1629] 半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体的制备如本文中所公开的实施。

[1630] 通过本文中所公开的方法诱变编码 MA79b 抗体的 DNA（轻链，SEQ ID NO:4，图 4 ；和重链，SEQ ID NO:5，图 5) 以修饰轻链和重链。还可以通过本文中所公开的方法诱变编码 MA79b 抗体的 DNA（重链，SEQ ID NO:5 ；图 5) 以修饰重链 Fc 区。

[1631] 通过本文中所公开的方法诱变编码 huMA79b.v17 抗体的 DNA（重链，SEQ ID NO:304，图 15) 以修饰重链。还可以通过本文中所公开的方法诱变编码 huMA79b.v17 抗体的 DNA（轻链，SEQ ID NO:303 ；图 15 ；和重链，SEQ ID NO:304 ；图 15) 以修饰轻链或重链 Fc 区。

[1632] 通过本文中所公开的方法诱变编码 huMA79b.v18 抗体的 DNA（重链，SEQ ID NO:306，图 16) 以修饰重链。还可以通过本文中所公开的方法诱变编码 huMA79b.v18 抗体的 DNA（轻链，SEQ ID NO:305 ；图 16 ；和重链，SEQ ID NO:306 ；图 16) 以修饰轻链或重链 Fc 区。

[1633] 通过本文中所公开的方法诱变编码 huMA79b.v28 抗体的 DNA（重链，SEQ ID NO:308，图 17) 以修饰重链。还可以通过本文中所公开的方法诱变编码 huMA79b.v28 抗体的 DNA（轻链，SEQ ID NO:307，图 17 ；和重链，SEQ ID NO:308，图 17) 以修饰轻链或重链 Fc 区。

[1634] 通过本文中所公开的方法诱变编码 huMA79b.v32 抗体的 DNA（轻链，SEQ ID NO:310，图 18 ；和重链，SEQ ID NO:309，图 18) 以修饰轻链和重链。

[1635] 通过本文中所公开的方法诱变编码抗 cyno CD79b 抗体的 DNA（轻链，SEQ ID NO:241 ；图 45 和重链，SEQ ID NO:243，图 47) 以修饰轻链和重链。还可以通过本文中所公开的方法诱变编码抗 cyno CD79b 抗体的 DNA（重链，SEQ ID NO:243，图 47) 以修饰重链 Fc 区。

[1636] 在半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体的制备中，诱变编码轻链的 DNA 以半胱氨酸替代轻链中 Kabat 第 205 位（连续编号第 209) 处的缬氨酸，如图 27(MA79bthioMAb 的轻链 SEQ ID NO:235) 和图 49(thioMAb 抗 cyno CD79b(ch10D10) 的轻链 SEQ ID NO:300) 所示。诱变编码重链的 DNA 以半胱氨酸替代重链中 EU 第 118 位（连续编号第 118 位 ；Kabat 编号第 114 位）处的丙氨酸，如图 48(thioMAb 抗 cyno CD79b(ch10D10) 抗体的重链 SEQ ID NO:244)、图 28(MA79b thioMAb 的重链 SEQ ID NO:236)、图 24(thioMAb huMA79b.v17 的重链 SEQ ID NO:228)、图 25(thioMAb huMA79b.v18 的重链 SEQ ID NO:230) 和图 26(thioMAb huMA79b.v28 的重链 SEQ ID NO:232) 所示。可以诱变抗 CD79b 抗体的 Fc 区以半胱氨酸替代重链 Fc 区中 EU 第 400 位（连续编号第 400 位 ；Kabat 编号第 396 位）处的丝氨酸，如表 2-4 所示。

[1637] A. 制备半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体，用于通过还原和再氧化进行的偶联

[1638] 全长的、半胱氨酸改造的抗 CD79b 单克隆抗体 (ThioMab) 在 CHO 细胞中表达，并在蛋白 A 亲和层析接着大小排阻层析上纯化。将纯化的抗体在约 pH8.0 的 500mM 硼酸钠和 500mM 氯化钠中重建，并用约 50-100 倍摩尔过量的 1mM TCEP（盐酸三 (2- 羧乙基）膦；Getz 等 (1999)Anal.Biochem.273:73-80；Soltec Ventures,Beverly,MA) 在 37℃还原大约 1-2 小时。将还原后的 ThioMab 稀释并加载到 10mM 乙酸钠 pH 5 中的 HiTrap S 柱上，并用含 0.3M 氯化钠的 PBS 洗脱。将洗脱的还原后 ThioMab 用 2mM 脱氢抗坏血酸 (dhAA) 在 pH 7 处理 3 小时，或用 2mM 硫酸铜 ($CuSO_4$) 水溶液在室温处理过夜。环境空气氧化作用也可能是有效的。通过 Sephadex G25 树脂上的洗脱来更换缓冲液，并用含 1mMDTPA 的 PBS 洗脱。如下评估硫醇 /Ab 值，即根据溶液在 280nm 的吸光度测定还原抗体浓度，并通过与 DTNB(Aldrich,Milwaukee,WI) 的反应并测定 412nm 吸光度来测定硫醇浓度。

[1639] 实施例 6：通过半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体和药物 - 接头中间体的偶联来制备半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体 - 药物偶联物

[1640] 在实施例 5 的还原和再氧化规程后，将半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体在 PBS（磷酸盐缓冲盐水）缓冲液中重建，并在冰上冷却。将相对于改造的半胱氨酸每个抗体大约 1.5 摩尔当量的 auristatin 药物 - 接头中间体（诸如 MC-MMAE（马来酰亚氨基乙酰基 - 单甲基 auristatin E)、MC-MMAF、MC-val-cit-PAB-MMAE 或 MC-val-cit-PAB-MMAF)（其具有硫醇反应性官能团（诸如马来酰亚胺））溶解于 DMSO，在乙腈和水中稀释，并添加至 PBS 中冷却的、还原的、再氧化的抗体。在大约 1 小时后，添加过量的马来酰亚胺以淬灭反应，并给任何未反应的抗体硫醇基团加帽。通过离心超滤来浓缩反应混合物，并将半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体 - 药物偶联物纯化，并通过经过 PBS 中 G25 树脂的洗脱来脱盐，在无菌条件下通过 0.2μm 滤器过滤，并冷冻用于贮存。

[1641] 如下实施 huMA79b.v18-HC(A118C)thioMAb-BMPEO-DM1 的制备。通过双马来酰亚胺试剂 $BM(PEO)_3$(Pierce Chemical) 修饰 huMA79b.v18-HC(A118C)thioMAb 上的游离半胱氨酸，在抗体表面上留下未反应的马来酰亚胺基团。这是如下实现的，即将 $BM(PEO)_3$ 溶解于 50％乙醇 / 水混合物中至 10mM 浓度，并将 10 倍摩尔过量的 $BM(PEO)_3$ 添加至在磷酸盐缓冲盐水中含大约 1.6mg/ml(10 微摩尔）浓度的 huMA79b.v18-HC(A118C)thioMAb 的溶液，并容许其反应 1 小时。通过含 150mM NaCl 的 30mM 柠檬酸盐 pH 6 缓冲液中的凝胶过滤 (HiTrap 柱，Pharmacia) 除去过量的 $BM(PEO)_3$。将溶解于二甲基乙酰胺 (DMA) 的大约 10 倍摩尔过量的 DM1 添加至 huMA79b.v18-HC(A118C)thioMAb-BMPEO 中间体。还可以采用二甲基甲酰胺 (DMF) 来溶解药物模块试剂。容许反应混合物反应过夜，之后凝胶过滤或透析入 PBS 以除去未反应的药物。使用 PBS 中 S200 柱上的凝胶过滤来除去高分子量聚集体，并提供纯化后的 huMA79b.v18-HC(A118C)thioMAb-BMPEO-DM1。

[1642] 通过相同的方案，生成了 thio 对照 hu-anti-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio 对照 hu-anti-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF、thio 对照 hu-anti-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE 和 thio 对照 anti-CD22-HC(A118C)-MC-MMAF。

[1643] 通过上文规程，制备并测试了下列半胱氨酸改造抗 CD79b 抗体 - 药物偶联物 (TDC)：

[1644] 1. 通过 A118C thio huMA79b.v18-HC(A118C) 和 MC-MMAF 的偶联而获得的 thio

huMA79b.v18-HC(A118C)-MC-MMAF；

[1645] 2. 通过A118C thio huMA79b.v18-HC(A118C)和BMPEO-DM1的偶联而获得的thio huMA79b.v18-HC(A118C)-BMPEO-DM1；

[1646] 3. 通过A118C thio huMA79b.v18-HC(A118C)和MC-val-cit-PAB-MMAE的偶联而获得的thio huMA79b.v18-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE；

[1647] 4. 通过A118C thio huMA79b.v28-HC(A118C)和MC-MMAF的偶联而获得的thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF；

[1648] 5. 通过thio huMA79b.v28-HC(A118C)和BMPEO-DM1的偶联而获得的thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1；

[1649] 6. 通过thio huMA79b.v28-HC(A118C)和MC-val-cit-PAB-MMAE的偶联而获得的thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-val-cit-PAB-MMAE；

[1650] 7. 通过A118C thio anti-cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)和MC-MMAF的偶联而获得的thio anti-cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)-MC-MMAF；

[1651] 8. 通过A118C thio anti-cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)和BMPEO-DM1的偶联而获得的thio anti-cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)-BMPEO-DM1；

[1652] 9. 通过A118C thio anti-cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)和MC-val-cit-PAB-MMAE的偶联而获得的thio anti-cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE；

[1653] 10. 通过thio MA79b-HC(A118C)和MC-MMAF的偶联而获得的thio MA79b-HC(A118C)-MC-MMAF；和

[1654] 11. 通过thio MA79b-LC(V205C)和MC-MMAF的偶联而获得的thio MA79b-LC(V205C)-MC-MMAF。

[1655] 实施例7：半胱氨酸改造的ThioMab-药物偶联物对细胞表面抗原的结合亲和力的表征

[1656] 通过FACS分析测定了huMA79b.v18、thio huMA79b.v28-药物偶联物和thio MA79b-药物偶联物对BJAB-萤光素酶细胞上所表达的CD79b的结合亲和力。另外，通过FACS分析测定了thio anti-cynoCD79b(ch10D10)药物偶联物对表达cynoCD79b的BJAB细胞上所表达的CD79b的结合亲和力

[1657] 简言之，使100μl中大约$1x10^6$个细胞与不同量(1.0μg、0.1μg或0.01μg Ab每百万个BJAB-萤光素酶细胞或表达cynoCD79b的BJAB细胞(用于抗cynoCD79b thioMAb))的下列抗CD79b thioMAb药物偶联物或裸的(未偶联的Ab作为对照)之一接触：(1)thio MA79b-LC(V205C)-MC-MMAF或(2)thio MA79b-HC(A118C)-MC-MMAF(分别见图29A-29B)；(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(分别见图30B-30D)；(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(分别见图31B-31D)；或(9)thio anti-cynoCDb79(ch10D10)-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE、(10)thio anti-cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)-BMPEO-DM1或(11)thio anti-cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)-MC-MMAF(分别见图32B-32D)。使用PE偶联的小鼠抗人Ig作为检测二抗(BD产

品目录 #555787)。

[1658] 使用 PE 偶联的小鼠抗人 Ig 检测结合至细胞表面的抗 CD79b 抗体。图 29A-32D 的图示表明抗原结合对所有测试的 thioMAb- 药物偶联物是近似相同的。

[1659] 实施例 8 :抗 CD79b ThioMab 药物偶联物的体外细胞增殖降低测定

[1660] 通过细胞增殖试验测定抗 CD79b ThioMAb- 药物偶联物 (包括 thiohuMA79b.v18-HC(A118C)-MCMMAF、thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE 和 thio huMA79b.v18-HC(A118C)-BMPEO-DM1) 的体外功效 (图 41A, BJAB- 萤光素酶 ;图 41B, Granta-519 ;图 41C, WSU-DLCL2)。CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assay 为商购的 (Promega Corp., Madison, WI) 基于鞘翅目 (Coleoptera) 荧光素酶的重组表达的同质性试验方法 (homogeneous assay method)(US5583024 ;US 5674713 ;US5700670)。该细胞增殖试验基于对存在的 ATP 进行定量测定了培养物中存活细胞的数量, 其中存在的 ATP 为代谢活性细胞的指示剂 (Crouch 等 , J. Immunol. Metho. 160:81-88(1993) ;US 6602677)。在 96 孔板中进行CellTiter-Glo® Assay, 使得它易于进行自动化高流通量筛选 (HTS)(Cree 等 , AntiCancer Drugs 6:398-404(1995))。同质性试验操作步骤包括将单一试剂 (CellTiter-Glo®试剂) 直接加入到在血清补充的培养基中培养的细胞中。

[1661] 同质性“添加 - 混合 - 测定”方式导致细胞裂解并且产生与存在的 ATP 量成比例的发光信号。底物甲虫荧光素被重组荧火虫荧光素酶氧化脱羧化, 而同时 ATP 转化成 AMP 并且产生光子。以相对发光单位 (RLU) 反映出存活细胞。通过发光计或 CCD 照相机成像装置记录数据。将发光输出表示为在一段时间内测定的 RLU。% RLU 是与“非药物偶联物”对照相比的标准化 RLU 百分比。或者, 可以在有闪烁剂存在下在闪烁计数器中对来自发光的光子进行计数。然后可以将光单位表示为 CPS(每秒计数)。

[1662] 通过使用下列方案的细胞增殖试验测定 thioMAb- 药物偶联物的功效 (改编自 CellTiter Glo Luminescent Cell Viability Assay, Promega Corp. Technical Bulletin TB288 ;Mendoza 等 , Cancer Res. 62:5485-5488(2002)):

[1663] 1. 使在培养基中含有约 3000 个 BJAB、Granta-519 或 WSU-DLCL2 细胞的 40μl 细胞培养物等份沉积在 96 孔不透明壁的平板的各孔中。

[1664] 2. 将 TDC(ThioMab 药物偶联物)(10μl) 添加至一式四份的实验孔至终浓度 10000、3333、1111、370、123、41、13.7、4.6 或 1.5ng/mL,“无药物偶联物”对照孔只接受培养基, 并温育 3 天。

[1665] 3. 使平板平衡至室温约 30 分钟。

[1666] 4. 添加 CellTiter-Glo 试剂 (50μl)。

[1667] 5. 将内含物在定轨振荡器上混合 2 分钟以便诱导细胞裂解。

[1668] 6. 将平板于室温温育 10 分钟以便稳定发光信号。

[1669] 7. 记录发光并作为 % RLU(相对发光单位) 在图中报告。来自与不含药物偶联物的培养基一起温育的细胞的数据于 0.51ng/ml 绘图。

[1670] 培养基 :BJAB、Granta-519 和 WSU-DLCL2 细胞在 RPMI1640/10% FBS/2mM 谷氨酰胺中生长。

[1671] 实施例 9 :抗 CD79b ThioMab 药物偶联物抑制体内肿瘤生长的测定

[1672] A. Granta-519(人套细胞淋巴瘤)

[1673] 在相似的研究中，使用与实施例 3（见上文）所公开的相同的异种移植物研究方案，改变所施用的药物偶联物和剂量，研究了 thioMAb 药物偶联物在 CB17SCID 小鼠中的 Granta-519 异种移植物（人套细胞淋巴瘤）中的功效。药物偶联物和剂量（所有 ADC 和对照都在第 0 天施用）显示于下文表 11。

[1674] 对照 Ab 是 hu- 抗 HER2-MC-MMAF 或 MA79b-MC-MMAF。对照 HC(A118C)thioMAb 是 thio hu- 抗 HER2-HC(A118C)-MMAF thioMAb。结果显示于表 11 和图 33A-33B。

[1675] 图 33A 的图描绘了以表 11 所示剂量用重链 A118C 或轻链 V205C 抗 CD79b TDC 处理的 CB17SCID 小鼠中 Granta-519 异种移植物中肿瘤体积均值随时间的变化。具体而言，thio chMA79b-HC(A118C)-MC-MMAF 和 thio chMA79b-LC(V205C)-MC-MMAF 的施用显示出与阴性对照（抗 hu-HER2-MC-MMAF 和 thio-hu- 抗 HER2-HC(A118C)-MC-MMAF）相比抑制肿瘤生长。其它对照包括 MA79b-MC-MMAF。

[1676] 另外，在同一研究中，在每个剂量组中测定了前 14 天的百分比体重变化。结果（图 33B）表明这些 thioMAb 药物偶联物的施用在这段时间里不导致百分比体重的显著降低或体重减轻。

[1677] 此外，在表 11 中显示了所测试的小鼠总数中显示出 PR ＝部分消退（其中施药后任何时间的肿瘤体积下降至低于第 0 天测得的肿瘤体积的 50％）或 CR ＝完全消退（其中施药后任何时间的肿瘤体积下降至 0mm^3）的数目，而 NA ＝不适用。(DAR ＝药物对抗体的比率）

[1678] 表 11

[1679] 对 CB17SCID 小鼠中的 Granta-519 异种移植物施用 Thio chMA79b-HC(A118C) 或 thio chMA79b-LC(V205C)MMAF 偶联物，体内肿瘤体积缩小

[1680]

施用的抗体	PR	CR	剂量 MMAF ($\mu g/m^2$)	剂量 抗体 (mg/kg)	DAR (药物/抗体)
对照hu-anti-HER2-MC-MMAF	0/8	0/8	413	6.8	4.0
Thio对照hu-anti-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF	0/9	0/9	191	6.8	1.85
对照chMA79b-MC-MMAF	1/8	0/8	100	2.3	3.0
对照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

[1681] B. BJAB- 萤光素酶（伯基特氏淋巴瘤 (Burkitt’s lymphoma)）异种移植物

[1682] 在相似的研究中，使用与实施例 3（见上文）所公开的相同的异种移植物研究方案，改变所施用的药物偶联物和剂量，在 CB17SCID 小鼠中的 BJAB- 萤光素酶异种移植物

(伯基特氏淋巴瘤 (Burkitt's lymphoma)) 中测试了别的药物偶联物的功效。药物偶联物和剂量 (所有 ADC 和对照都在第 0 天施用) 显示于下文表 12。

[1683] 对照抗体是 huMA79b.v28(偶联至 SMCC-DM1)。对照 HC(A118C)thioMAb 是 thio hu- 抗 HER2-HC(A118C) 抗体 thioMAb(偶联至 BMPEO-DM1、MC-MMAF 或 MCvcPAB-MMAE)、thio huMA79b.v28-HC(A118C)thioMAb 或 thio hu- 抗 CD22(10F4v3)-HC(A118C)thioMAb(偶联至 MC-MMAF)。结果显示于下文表 12 和图 34A-34B。

[1684] 图 34A 的图描绘了如表 12 所示用 huMA79b.v28-HC(A118C)thioMAb 药物偶联物处理的 CB17SCID 小鼠中 BJAB- 萤光素酶异种移植物肿瘤体积均值随时间的变化。具体而言,thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF 和 thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE thioMAb 药物偶联物的施用显示出与阴性对照抗体药物偶联物 (thio-hu- 抗 HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio-hu- 抗 HER2-HC(A118C)-MC-MMAF 和 thio-hu- 抗 HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE) 相比抑制肿瘤生长。其它对照是 thio-huMA79b.v28-HC(A118C)、huMA79b.v28-SMCC-DM1 和 thio-hu- 抗 CD22(10F4v3)-HC(A118C)-MC-MMAF。

[1685] 另外,在同一研究中,在每个剂量组中测定了前 7 天的百分比体重变化。结果 (图 34B) 表明这些 thioMAb 药物偶联物的施用在这段时间里不引起百分比体重的显著降低或体重减轻。

[1686] 此外,在表 12 中显示了所测试的小鼠总数中显示出 PR = 部分消退 (其中施药后任何时间的肿瘤体积下降至低于第 0 天测得的肿瘤体积的 50%) 或 CR = 完全消退 (其中施药后任何时间的肿瘤体积下降至 0mm^3) 的数目,而 NA = 不适用。(DAR = 药物对抗体的比率)

[1687] 表 12

[1688] 在 CB17SCID 小鼠中的 BJAB- 萤光素酶异种移植物中施用 Thio HuMA79b.v28-HC(A118C)MMAE、MMAF 和 DM1 偶联物,体内肿瘤体积缩小

[1689]

施用的抗体	PR	CR	剂量 MMAF、MMAE 或DM1 ($\mu g/m^2$)	剂量 抗体 (mg/kg)	DAR (药物/抗体)
Thio对照hu-anti-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1	0/10	0/10	57	2	1.86
Thio对照hu-anti-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF	1/10	0/10	58	2	1.9
Thio对照hu-anti-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE	0/10	0/10	46	2	1.55
对照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对照huMA79b.v28-HC(A118C)	0/10	0/10	NA	2	NA
Thio对照hu-anti-CD22(10F4v3)-HC(A118C)-MC-MMAF	1/10	4/10	59	2	1.96

[1690] C.WSU-DLCL2(弥漫性大细胞淋巴瘤)异种移植物

[1691] 在相似的研究中,使用与实施例3(见上文)所公开的相同的异种移植物研究方案,改变所施用的药物偶联物和剂量,研究了thioMAb药物偶联物在CB17SCID小鼠中的滤泡性淋巴瘤WSU-DLCL2异种移植物(弥漫性大细胞淋巴瘤)中的功效。药物偶联物和剂量显示于下文表13。

[1692] 对照抗体是huMA79b.v28(偶联至SMCC-DM1)。对照HC(A118C)thioMAb是thio hu-抗HER2-HC(A118C)抗体thioMAb(偶联至BMPEO-DM1、MC-MMAF或MCvcPAB-MMAE)、thio huMA79b.v28-HC(A118C)thioMAb或thio anti-CD2210F4v3-HC(A118C)thioMAb(偶联至MC-MMAF)。结果显示于下文表13。

[1693] 图35A的图描绘了以表13所示剂量用重链A118C抗CD79b TDC处理的CB17SCID小鼠中WSU-DLCL2(弥漫性大细胞淋巴瘤)异种移植物肿瘤体积均值随时间的变化。具体而言,thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF和thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE的施用显示出与阴性对照(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))相比抑制肿瘤生长。其它对照包括thio-huMA79b.v28-HC(A118C)、huMA79b.v28-SMCC-DM1和thio hu-抗CD22(10F4v3)-HC(A118C)-MC-MMAF。

[1694] thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE TDC表现为此研究中最有效的测试剂。

[1695] 另外,在同一研究中,在每个剂量组中测定了前7天的百分比体重变化。结果(图35B)表明这些thioMAb药物偶联物的施用在这段时间里不引起百分比体重的显著降低或

体重减轻。

[1696] 此外，在表 13 中显示了所测试的小鼠总数中显示出 PR ＝部分消退（其中施药后任何时间的肿瘤体积下降至低于第 0 天测得的肿瘤体积的 50％）或 CR ＝完全消退（其中施药后任何时间的肿瘤体积下降至 0mm^3）的数目，而 NA ＝不适用。(DAR ＝药物对抗体的比率）

[1697] 表 13

[1698] 在 CB17SCID 小鼠中的 WSU-DLCL2 异种移植物中施用 Thio HuMA79b.v28-HC(A118C)MMAE、MMAF 和 DM1 偶联物，体内肿瘤体积缩小

[1699]

施用的抗体	PR	CR	剂量 MMAF、MMAE 或DM1 (μg/m^2)	剂量 抗体 (mg/kg)	DAR (药物/抗体)
Thio对照hu-anti-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1	0/10	0/10	114	4	1.86
Thio对照hu-anti-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF	0/10	0/10	115	4	1.9
Thio对照hu-anti-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE	0/10	0/10	92	4	1.55
对照huMA79b.v28-SMCC-DM1	1/10	0/10	202	4	3.4
Thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1	0/10	0/10	110	4	1.85
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对照huMA79b.v28-HC(A118C)	0/10	0/10	NA	4	NA
Thio对照10F4v3-HC(A118C)-MC-MMAF	1/10	0/10	118	4	1.96
Thio对照huMA79b.v28-HC(A118C)	0/10	0/10	NA	4	NA

[1700] D.DOHH2（滤泡性淋巴瘤）异种移植物

[1701] 在相似的研究中，使用与实施例 3（见上文）所公开的相同的异种移植物研究方案，改变所施用的药物偶联物和剂量，研究了 thioMAb 药物偶联物缩小 CB17SCID 小鼠中 DOHH2 异种移植物模型中 B 细胞肿瘤体积的能力。药物偶联物和剂量（所有 ADC 和对照都在第 0 天施用）显示于下文表 14。

[1702] 对照 Ab 是 huMA79b.v28（偶联至 SMCC-DM1）。对照 HC(A118C)thioMAb 是 thio hu- 抗 HER2-HC(A118C)thioMAb（偶联至 BMPEO-DM1、MC-MMAF 或 MCvcPAB-MMAE）、thio huMA79b.v28-HC(A118C)thioMab 和 thio hu- 抗 CD22-HC(A118C)（偶联至 MC-MMAF）。结果显示于表 14 和图 36。

[1703] 图 36 的图描绘了以表 14 所示剂量用重链 A118C TDC 处理的 CB17 SCID 小鼠中 DOHH2 细胞异种移植物肿瘤体积均值随时间的变化。具体而言，thio huMA79b.

v28-HC-(A118C)-BMPEO-DM1、thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF 和 thiohuMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE thioMAb 药物偶联物以表 14 所示剂量的施用显示出与阴性对照药物偶联物 (Thio 对照 hu- 抗 HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1、Thio 对照 hu- 抗 HER2-HC(A118C)-MC-MMAF、Thio 对照 hu- 抗 HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE) 相比抑制肿瘤生长。其它对照包括 Thio 对照 huMA79b.v28-HC(A118C)、Thio 对照抗 CD22-HC(A118C)-MC-MMAF 和 Thio 对照 huMA79b.v28-HC(A118C) 和对照 huMA79b.v28-SMCC-DM1。

[1704] 此外，在表 14 中显示了所测试的小鼠总数中显示出 PR ＝部分消退（其中施药后任何时间的肿瘤体积下降至低于第 0 天测得的肿瘤体积的 50％）或 CR ＝完全消退（其中施药后任何时间的肿瘤体积下降至 0mm^3）的数目，而 NA ＝不适用。(DAR ＝药物对抗体的比率）

[1705] 表 14

[1706] 在 CB17SCID 小鼠中的 DOHH2 异种移植物中施用 Thio HuMA79b.v28-HC(A118C) DM1、MMAF 和 MMAE 偶联物，体内肿瘤体积缩小

[1707]

施用的抗体	PR	CR	剂量 MMAF 或DM1 ($\mu g/m^2$)	剂量 抗体 (mg/kg)	DAR (药物/抗体)
Thio对照hu-anti-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1	0/9	0/9	114	4	1.86
Thio对照hu-anti-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF	0/9	0/9	115	4	1.9
Thio对照hu-anti-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE	0/9	0/9	92	4	1.55
对照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对照huMA79b.v28-HC(A118C)	1/9	0/9	NA	4	NA
Thio对照anti-CD22-HC(A118C)-MC-MMAF	0/9	0/9	118	4	1.96

[1708] E.BJAB- 萤光素酶（伯基特氏淋巴瘤 (Burkitt's lymphoma)）异种移植物

[1709] 在相似的研究中，使用与实施例 3（见上文）所公开的相同的异种移植物研究方案，改变所施用的抗体药物偶联物和剂量，研究了药物偶联物在 CB17SCID 小鼠中 BJAB- 萤光素酶（伯基特氏淋巴瘤 (Burkitt's lymphoma)）异种移植物中的功效。药物偶联物和剂量（所有 ADC 和对照都在第 0 天施用）显示于下文表 15。

[1710] 对照抗体是媒介（只是 (ADC 的）缓冲液）。对照 HC(A118C)thioMAb 是 thio hu-anti-HER2-HC(A118C) 抗体 thioMAb（偶联至 BMPEO-DM1、MCvcPAB-MMAE 或 MC-MMAF)、thio huMA79b.v28-HC(A118C)thioMAb 或 thio anti-CD2210F4v3-HC(A118C)thioMAb（偶联

至 MC-MMAF)。结果显示于下文表 15。

[1711] 图 37 是描绘了以表 15 所示剂量用重链 A118C 抗 CD79b TDC 处理的 CB17SCID 小鼠中 BJAB- 萤光素酶异种移植物肿瘤体积均值随时间的变化的图。具体而言，thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE 和 thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF 的施用显示出与阴性对照相比 (thio- 抗 HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio- 抗 HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE、thio- 抗 HER2-HC(A118C)-MC-MMAF) 相比抑制肿瘤生长。其它对照包括 thio huMA79b.v28-HC(A118C) 和 thio-10F4v3-HC(A118C)-MC-MMAF。

[1712] 此外，在表 15 中显示了所测试的小鼠总数中显示出 PR ＝部分消退（其中施药后任何时间的肿瘤体积下降至低于第 0 天测得的肿瘤体积的 50％）或 CR ＝完全消退（其中施药后任何时间的肿瘤体积下降至 0mm^3）的数目，而 NA ＝不适用。(DAR ＝药物对抗体的比率）

[1713] 表 15

[1714] 在 CB17SCID 小鼠中的 BJAB- 萤光素酶异种移植物中施用 Thio HuMA79b.v28-HC(A118C)MMAE、MMAF 和 DM1 偶联物，体内肿瘤体积缩小

[1715]

施用的抗体	PR	CR	剂量 MMAF、MMAE 或DM1 ($\mu g/m^2$)	剂量 抗体 (mg/kg)	DAR (药物/抗体)
对照媒介	0/10	0/10	NA	NA	NA
Thio对照hu-anti-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1	0/10	1/10	57	2	1.86
Thio对照hu-anti-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE	0/10	0/10	23	1	1.55
Thio对照hu-anti-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对照huMA79b.v28-HC(A118C)	0/10	0/10	NA	1	NA
Thio对照10F4v3-HC(A118C)-MC-MMAF	0/10	1/10	30	1	1.96

[1716] F.Granta-519（人套细胞淋巴瘤）异种移植物

[1717] 在相似的研究中，使用与实施例 3（见上文）所公开的相同的异种移植物研究方案，改变所施用的药物偶联物和剂量，研究了 thioMAb 药物偶联物在 CB17SCID 小鼠中 Granta-519 异种移植物（人套细胞淋巴瘤）中的功效。药物偶联物和剂量（所有 ADC 和对

照都在第 0 天施用）显示于下文表 16。

[1718] 对照 HC(A118C)thioMAb 是 thio hu- 抗 HER2-HC(A118C)thioMAb（偶联至 BMPEO-DM1 或 MC-MMAF）。结果显示于表 16 和图 38A-38B。

[1719] 图 38A 的图描绘了以表 16 所示剂量用重链 A118C 抗 CD79b TDC 处理的 CB17SCID 小鼠中 Granta 519 异种移植物肿瘤体积均值随时间的变化。具体而言，thio huMA79b.v28-HC-(A118C)-BMPEO-DM1 和 thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF thioMAb 药物偶联物以表 16 所示剂量的施用显示出与对照药物偶联物相比，抑制肿瘤生长。

[1720] 另外，在同一研究中，在每个剂量组中测定了前 14 天的百分比体重变化。结果（图 38B）表明这些 thioMAb 药物偶联物的施用在这段时间里不导致百分比体重的降低或不引起体重减轻。

[1721] 在表 16 中显示了所测试的小鼠总数中显示出 PR ＝部分消退（其中施药后任何时间的肿瘤体积下降至低于第 0 天测得的肿瘤体积的 50％）或 CR ＝完全消退（其中施药后任何时间的肿瘤体积下降至 0mm^3）的数目，而 NA ＝不适用。(DAR ＝药物对抗体的比率）

[1722] 表 16

[1723] 在 CB17SCID 小鼠中的 Granta-519 异种移植物中施用 Thio HuMA79b.v28-HC(A118C)DM1 和 MMAF 偶联物，体内肿瘤体积缩小

[1724]

施用的抗体	PR	CR	剂量 MMAF 或DM1 ($\mu g/m^2$)	剂量 抗体 (mg/kg)	DAR (药物/抗体)
Thio对照hu-anti-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1	0/8	0/8	342	12	1.86
Thio对照hu-anti-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

[1725] G.WSU-DLCL2（弥漫性大细胞淋巴瘤）异种移植物

[1726] 在相似的研究中，使用与实施例 3（见上文）所公开的相同的异种移植物研究方案，改变所施用的药物偶联物和剂量，研究了 thioMAb 药物偶联物在 CB17SCID 小鼠中 WSU-DLCL2 异种移植物（弥漫性大细胞淋巴瘤）中的功效。药物偶联物和剂量（所有 ADC

和对照都在第 0 天施用）显示于下文表 17。

[1727] 对照抗体是媒介（只是 (ADC 的）缓冲液）。对照 thio MAb 是 thio hu- 抗 HER2-HC(A118C) 抗体 thioMAb（偶联至 BMPEO-DM1、MCvcPAB-MMAE 或 MC-MMAF)。结果显示于表 17 和图 39。

[1728] 图 39 是的图描绘了以表 17 所示剂量用重链 A118C 抗 CD79b TDC 处理的 CB17SCID 小鼠中 WSU-DLCL2 异种移植物肿瘤体积均值随时间的变化。具体而言，thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF 和 thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE（以抗体剂量 0.5、1.0mg/kg、2.0mg/kg 和 4.0mg/kg) 的施用显示出与阴性对照 (thio-hu-anti-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio-hu-anti-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE、thio-hu-anti-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF 和 A- 媒介）相比抑制肿瘤生长。

[1729] 此外，在表 17 中显示了所测试的小鼠总数中显示出 PR ＝部分消退（其中施药后任何时间的肿瘤体积下降至低于第 0 天测得的肿瘤体积的 50％）或 CR ＝完全消退（其中施药后任何时间的肿瘤体积下降至 0mm^3) 的数目，而 NA ＝不适用。(DAR ＝药物对抗体的比率）

[1730] 表 17

[1731] 在 CB17SCID 小鼠中的 WSU-DLCL2 异种移植物中施用 Thio HuMA79b.v28-HC(A118C)MMAE、MMAF 和 DM1 偶联物，体内肿瘤体积缩小

[1732]

施用的抗体	PR	CR	剂量 MMAF、MMAE 或DM1 ($\mu g/m^2$)	剂量 抗体 (mg/kg)	DAR (药物/抗体)
对照媒介	0/9	0/9	NA	NA	NA
Thio对照hu-anti-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1	0/9	0/9	114	4	1.86
Thio对照hu-anti-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE	0/9	0/9	92	4	1.55
Thio对照hu-anti-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

[1733] H.Granta-519（人套细胞淋巴瘤）异种移植物

[1734] 在相似的研究中，使用与实施例 3（见上文）所公开的相同的异种移植物研究方案，改变所施用的药物偶联物和剂量，研究了 thioMAb 药物偶联物在 CB17SCID 小鼠中 Granta-519 异种移植物（人套细胞淋巴瘤）中的功效。药物偶联物和剂量（所有 ADC 和对照都在第 0 天施用）显示于下文表 18。

[1735] 对照 thio MAb 是 thio hu-抗 HER2-HC(A118C)（偶联至 BMPEO-DM1）和 thio hu-抗 HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE 抗体 thioMAb。结果显示于下文表 18。

[1736] 图 40 的图描绘了以表 18 所示剂量用重链 A118C 抗 CD79b TDC 处理的 CB17SCID 小鼠中 Granta-519 异种移植物肿瘤体积均值随时间的变化。具体而言，thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1 和 thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE（以抗体剂量 1.0mg/kg、2.0mg/kg 和 4.0mg/kg）的施用显示出与阴性对照（thio-抗 HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1 和 thio-抗 HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE）相比抑制肿瘤生长。

[1737] 此外，在表 18 中显示了所测试的小鼠总数中显示出 PR ＝部分消退（其中施药后任何时间的肿瘤体积下降至低于第 0 天测得的肿瘤体积的 50％）或 CR ＝完全消退（其中施药后任何时间的肿瘤体积下降至 0mm^3）的数目，而 NA ＝不适用。(DAR ＝药物对抗体的比率）

[1738] 表 18

[1739] 在 CB17SCID 小鼠中的 Granta-519 异种移植物中施用 Thio HuMA79b.v28-HC(A118C)DM1 和 MMAE 偶联物，体内肿瘤体积缩小

[1740]

施用的抗体	PR	CR	剂量 MMAF、MMAE 或DM1 ($\mu g/m^2$)	剂量 抗体 (mg/kg)	DAR (药物/抗体)
Thio对照hu-anti-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1	0/10	0/10	114	4	1.86
Thio对照hu-anti-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

[1741] I. BJAB-cynoCD79b 异种移植物

[1742] 在相似的研究中，使用与实施例 3（见上文）所公开的相同的异种移植物研究方案，改变所施用的药物偶联物和剂量，研究了 thioMAb 药物偶联物在 CB17SCID 中表达 cynoCD79b 的 BJAB（伯基特氏淋巴瘤 (Burkitt's lymphoma)）细胞 (BJAB-cynoCD79b) 异

种移植物中的功效。药物偶联物和剂量（所有 ADC 和对照都在第 0 天施用）显示于下文表 18。

[1743] 对照 Ab 是媒介（只是缓冲液）。对照 thio MAb 是 thio-hu- 抗 HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio-hu- 抗 HER2-HC(A118C)-MC-MMAF 和 thio-hu- 抗 HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE 抗体 thioMAb。结果显示于表 19 和图 50。

[1744] 图 50 的图描绘了以表 19 所示剂量用重链 A118C 抗 CD79b TDC 处理的 CB17SCID 小鼠中 BJAB-cynoCD79b 异种移植物中随时间对肿瘤生长的抑制。具体而言，thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE 和 thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF 以及 thio-anti-cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio-anti-cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE 和 thio-anti-cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)-MC-MMAF 的施用显示出与阴性对照（thio-anti-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio-anti-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE 和 thio-anti-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF 和 A- 媒介）相比抑制肿瘤生长。

[1745] 此外，在表 19 中显示了所测试的小鼠总数中显示出 PR ＝部分消退（其中施药后任何时间的肿瘤体积下降至低于第 0 天测得的肿瘤体积的 50％）或 CR ＝完全消退（其中施药后任何时间的肿瘤体积下降至 0mm^3）的数目，而 NA ＝不适用。(DAR ＝药物对抗体的比率）

[1746] 表 19

[1747] 在 CB17SCID 小鼠的 BJAB-cynoCD79b 异种移植物中施用 Thio anti-cyno CD79b(ch10D10)-HC(A118C)DM1、MMAF 或 MMAE 或 Thio HuMA79b.v28DM1、MMAF 或 MMAE 偶联物，体内肿瘤体积缩小

施用的抗体	PR	CR	剂量 MMAF、MMAE 或DM1 ($\mu g/m^2$)	剂量 抗体 (mg/kg)	DAR (药物/抗体)
对照媒介	0/9	0/9	NA	NA	NA
Thio对照hu-anti-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1	0/9	0/9	57	2	1.86
Thio对照hu-anti-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE	0/9	0/9	23	1	1.55
Thio对照hu-anti-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF	0/9	0/9	29	1	1.9
Thio anti-cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)-BMPEO-DM1	3/8	1/8	53	2	1.8
Thio anti-cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE	1/9	2/9	27	1	1.86
Thio anti-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

[1748] J.BJAB-cynoCD79b 异种移植物

[1749] 在相似的研究中，使用与实施例 3（见上文）所公开的相同的异种移植物研究方案，改变所施用的药物偶联物和剂量，研究了 thioMAb 药物偶联物在 CB17SCID 小鼠中表达 cynoCD79b 的 BJAB（伯基特氏淋巴瘤 (Burkitt's lymphoma)）(BJAB cynoCD79b) 异种移植物中的功效。药物偶联物和剂量（所有 ADC 和对照都在第 0 天施用）显示于下文表 19。

[1750] 对照 thio MAb 是 thio-hu- 抗 HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1、thio-huMA79b.v28-HC(A118C) 和 thio- 抗 cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C) 抗体 thioMAb。结果显示于表 20 和图 51。

[1751] 图 51 是的图描绘了以表 20 所示剂量用重链 A118C 抗 CD79b TDC 处理的 CB17SCID 小鼠中 BJAB-cynoCD79b 异种移植物中随时间对肿瘤生长的抑制。具体而言，thio huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1 以及 thio- 抗 cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)-BMPEO-DM1 的施用显示出与阴性对照 (thio- 抗 HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1) 相比抑制肿瘤生长。其它对照包括 thio-hu-MA79b.v28-HC(A118C) 和 thio- 抗 cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)。

[1752] 结果显示于下文表 20。在表 20 中显示了所测试的小鼠总数中显示出 PR = 部分消退（其中施药后任何时间的肿瘤体积下降至低于第 0 天测得的肿瘤体积的 50%）或 CR = 完全消退（其中施药后任何时间的肿瘤体积下降至 0mm^3）的数目，而 NA = 不适用。(DAR = 药物对抗体的比率）

[1753] 表 20

[1754] 在 CB17SCID 小鼠的 BJAB-cynoCD79b 异种移植物中施用 Thio anti-cyno CD79b(ch10D10)-HC(A118C)DM1 或 Thio HuMA79b.v28-HC(A118C)DM1 偶联物，体内肿瘤体积缩小

[1755]

施用的抗体	PR	CR	剂量 MMAF、MMAE 或DM1 (μg/m^2)	剂量 抗体 (mg/kg)	DAR (药物/抗体)
Thio对照hu-anti-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1	0/10	0/10	57	2	1.86
Thio对照huMA79b.v28-HC(A118C)	0/10	0/10	NA	2	NA
Thio对照anti-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 anti-cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)-BMPEO-DM1	0/10	0/10	27	1	1.8
Thio anti-cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)-BMPEO-DM1	0/10	1/10	53	2	1.8

[1756] 认为前述书面说明足以使本领域技术人员能够实践本发明。本发明并不限于所保藏构建体的范围，因为所保藏实施方案意图作为本发明某些方面的单一例示，而且功能上

相当的任何构建物都在本发明的范围内。本文中的材料保藏并非承认本文中所包含的书面说明不足以能够实践本发明的任何方面，包括其最佳模式，也不能解释为将权利要求的范围限制于它所描述的具体例示。实际上，根据上面的描述，除了本文所显示和描述的，本发明的多种修饰对于本领域技术人员是显而易见的，而且在所附权利要求的范围内。

[0001]

序列表

<110> 健泰科生物技术公司(Genentech, Inc.)
Chen, Yvonne
Dennis, Mark
Dornan, David
Elkins, Kristi
Junutula, Jagath Reddy
Polson, Andrew
Zheng, Bing

<120> 抗CD79B抗体和免疫偶联物及使用方法

<130> P5111R1-1 WO

<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> 人(Homo sapiens)

<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

[0002]

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

tcccaccca gggaggccct ggcctccagt gccttcccca gtggaataaa 1250

cggtgtgtcc tgagaaacca 1270

<210> 2
<211> 229
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<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	

[0003]

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> 嵌合抗体的轻链 (chMA79b)

<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 tttgaactg 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 aataaagcaa tagcatcaca aatttcacaa ataaagcatt 850

tttttcactg cattctagtt gtggtttgtc caaactcatc aatgtatctt 900

atcatgtctg gatcgggaat taattcggc 929

<210> 4
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 嵌合抗体的轻链 (chMA79b)

<400> 4
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu

[0004]

```
  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> 嵌合抗体的重链 (chMA79b)

<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

[0005]

tacatcctcc aacacagcct acatgcaact cagcagcctg acatctgagg 350

actctgccgt ctattactgt acaagacgag taccggttta ctttgactac 400

tggggccaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcctcca ccaagggccc 450

atcggtcttc ccctggcac 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> 嵌合抗体的重链 (chMA79b)

<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	

[0006]

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

[0007]

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(Macaca fascicularis)

<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

[0008]

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> 小鼠(Mus musculus)

<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> 人(Homo sapiens)

[0009]

<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> 嵌合抗体的轻链的可变域 (chMA79b)

<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> 人源化抗体嫁接物的轻链的可变域 (huMA79b 嫁接物)

[0010]

<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> 人(Homo sapiens)

<400> 12
Ala Arg Ser Glu Asp Arg Tyr Arg Asn Pro Lys
5 10

<210> 13
<211> 113
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<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

[0011]

<210> 14
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 嵌合抗体的重链的可变域(chMA79b)

<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> 人源化抗体嫁接物的重链的可变域 (huMA79b 嫁接物)

<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

[0012]

<210> 16
<211> 16
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<400> 18
Ala Ala Ser Asn Arg Glu Ser
5

<210> 19
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体

<400> 19
Ala Ala Ser Asn Leu Lys Ser
5

<210> 20
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体

<400> 20
Gln Gln Ser Asn Ser Asp Pro Leu Thr
5

<210> 21
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

[0013]

<220>
<223> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<400> 22
Ala Ala Arg Lys Leu Gly Arg
5

<210> 23
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体

<400> 23
Ala Ala Ser Arg Leu Glu Ser
5

<210> 24
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体

<400> 24
Ala Ala Arg Lys Leu Gly Asn
5

<210> 25
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体

<400> 25
Ala Ala Arg Lys Leu Lys Arg
5

<210> 26
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体

<400> 26

[0014]

Ala Ala Arg Tyr Leu Lys Arg
5

<210> 27
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体

<400> 27
Ala Ala Arg Lys Leu Lys Ser
5

<210> 28
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体

<400> 28
Ala Ala Arg Lys Leu Ala Ser
5

<210> 29
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体

<400> 29
Ala Ala Gly Ile Leu Ala Arg
5

<210> 30
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体

<400> 30
Ala Ala Arg Lys Leu Arg Ser
5

<210> 31
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体

<400> 31
Ala Ala Arg Lys Leu Gly Ser
5

<210> 32
<211> 7

[0015]

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体

<400> 32
Ala Ala Arg His Leu Lys Arg
5

<210> 33
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体

<400> 33
Ala Ser Arg Tyr Leu Ser Arg
5

<210> 34
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体

<400> 34
Ala Gly Ser Lys Leu Leu Arg
5

<210> 35
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体

<400> 35
Ala Ala Ser Asn Arg Lys Ser
5

<210> 36
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体

<400> 36
Ala Ala Ser Lys Leu Gly Ser
5

<210> 37
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体

[0016]

<400> 37
Ala Ala Arg Tyr Leu Arg Arg
5

<210> 38
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体

<400> 38
Ala Ala Arg Arg Leu Arg Thr
5

<210> 39
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体

<400> 39
Ala Ala Arg Arg Leu Gly Arg
5

<210> 40
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体

<400> 40
Ala Ala Arg Gln Arg Lys Arg
5

<210> 41
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体

<400> 41
Ala Ala Arg Lys Leu Leu Arg
5

<210> 42
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体

<400> 42
Ala Ala Arg Lys Leu Lys Asn
5

[0017]

<210> 43
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体

<400> 43
Ala Ala Arg Lys Leu Gly Thr
5

<210> 44
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体

<400> 44
Ala Ala Arg Lys Leu Gly Gly
5

<210> 45
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体

<400> 45
Ala Ala Arg Lys Leu Ala Arg
5

<210> 46
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<400> 47
Gln Gln Ser Asn Gln Asp Pro Leu Thr
5

<210> 48
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

[0018]

<220>
<223> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<400> 53
Asp Gln Arg Asn Ala Asp Pro Leu Thr

[0019]

5

<210> 54
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<400> 58
Gly Tyr Thr Phe Asn Arg Tyr Trp Ile Asn
5 10

<210> 59
<211> 10
<212> PRT

[0020]

<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

[0021]

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<400> 69
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Leu Ser
5 10

<210> 70

[0022]

<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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> 序列是合成的

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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>

[0023]

<223> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<400> 80
Gly Tyr Pro Phe Arg Ser Tyr Trp Ile Asn
5 10

[0024]

<210> 81
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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

[0025]

<220>
<223> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<400> 91

[0026]

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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<400> 96
Cys Thr Arg Arg Val Pro Ile Arg Phe Asp
5 10

<210> 97
<211> 10

[0027]

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

[0028]

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<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> 人源化的抗体变体

<400> 106
Cys Thr Arg Arg Ile Pro Val Tyr Phe Asp
5 10

<210> 107
<211> 10
<212> PRT
<213> 小鼠(Mus musculus)

<400> 107
Cys Thr Arg Arg Val Pro Val Tyr Phe Asp
5 10

<210> 108
<211> 87
<212> PRT

[0029]

<213> 人(Homo sapiens)

<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> 人(Homo sapiens)

<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> 人(Homo sapiens)

<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

[0030]

Val Thr Val Ser Ser
80

<210> 111
<211> 79
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<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> 人(Homo sapiens)

<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> 人(Homo sapiens)

<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

[0031]

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> 人(Homo sapiens)

<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> 人(Homo sapiens)

<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> 人(Homo sapiens)

<400> 116

[0032]

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> 人(Homo sapiens)

<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> 人(Homo sapiens)

<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

[0033]

<210> 119
<211> 79
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<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> 人(Homo sapiens)

<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> 人(Homo sapiens)

<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

[0034]

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> 人(Homo sapiens)

<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> 人(Homo sapiens)

<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> 人(Homo sapiens)

<400> 124
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
1 5 10 15

[0035]

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> 人(Homo sapiens)

<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> 人(Homo sapiens)

<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

[0036]

<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<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> 人(Homo sapiens)

<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> 人(Homo sapiens)

<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

[0037]

65 70 75

Lys Val Glu Ile Lys
80

<210> 130
<211> 80
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<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 嫁接物的 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 嫁接物的 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 嫁接物的 HVR3-LC

<400> 133
Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Leu Thr
5

[0038]

<210> 134
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> huMA79b 嫁接物的 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 嫁接物的 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 嫁接物的 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> 人源化的抗体变体的 HVR1-LC (huMA79b. V28)

<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>人源化的抗体变体的 HVR3-HC (huMA79b. V28)

<400> 138
Thr Arg Arg Val Pro Ile Arg Leu Asp Tyr
5 10

<210> 139
<211> 23

[0039]

<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<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> 人(Homo sapiens)

<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> 人(Homo sapiens)

<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> 人(Homo sapiens)

<400> 142
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
5 10

<210> 143
<211> 25
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<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> 人(Homo sapiens)

<400> 144
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
5 10

<210> 145

[0040]

<211> 30
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<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> 人(Homo sapiens)

<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> 人源化抗体变体 FR3-HC 合成物

<220>
<221> Xaa
<222> 6
<223> Xaa 是 A 或 R

<220>
<221> Xaa
<222> 8
<223> Xaa 是 T 或 N

<220>
<221> Xaa
<222> 13
<223> Xaa 是 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> 人(Homo sapiens)

<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

[0041]

<210> 149
<211> 32
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<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> 人(Homo sapiens)

<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> 人(Homo sapiens)

<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> 人源化的抗体变体的 FR1-LC (huMA79b.v17)

<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

[0042]

<220>
<223> 人源化的抗体变体的 FR2-LC huMA79b.v17)

<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> 人源化的抗体变体的 FR3-LC (huMA79b.v17)

<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>
<223> 人源化的抗体变体的 FR4-LC (huMA79b.v17)

<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> 人源化的抗体变体的 HVR1-LC (huMA79b.v17)

<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> 人源化的抗体变体的 HVR2-LC (huMA79b.v17)

<400> 157
Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser
5

<210> 158
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

[0043]

<220>
<223> 人源化的抗体变体的 HVR3-LC (huMA79b.v17)

<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> 人源化的抗体变体的 CL1-LC (huMA79b.v17)

<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> 人源化的抗体变体的 FR1-HC (huMA79b.v17)

<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> 人源化的抗体变体的 FR2-HC (huMA79b.v17)

<400> 161

[0044]

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> 人源化的抗体变体的 FR3-HC (huMA79b.v17)

<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> 人源化的抗体变体的 FR4-HC (huMA79b.v17)

<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> 人源化的抗体变体的 HVR1-HC (huMA79b.v17)

<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> 人源化的抗体变体的 HVR2-HC (huMA79b.v17)

<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> 人源化的抗体变体的 HVR-H3 (huMA79b.v17)

[0045]

<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> 人源化的抗体变体的 CH1-HC (huMA79b.v17)

<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> 人源化的抗体变体的 Fc-HC (huMA79b.v17)

<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

[0046]

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> 人源化的抗体变体的 LC-HC 可变域 (huMA79b.v17)

<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>

[0047]

<223> 人源化的抗体变体的 HC-可变域 (huMA79b.v17)

<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> 人源化的抗体变体的 FR1-LC (huMA79b.v18)

<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> 人源化的抗体变体的 FR2-LC (huMA79b.v18)

<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> 人源化的抗体变体的 FR3-LC (huMA79b.v18)

<400> 173
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
1 5 10 15

[0048]

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> 人源化的抗体变体的 FR4-LC (huMA79b.v18)

<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> 人源化的抗体变体的 HVR1-LC (huMA79b.v18)

<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> 人源化的抗体变体的 HVR2-LC (huMA79b.v18)

<400> 176
Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser
5

<210> 177
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体的 HVR3-LC (huMA79b.v18)

<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> 人源化的抗体变体的 CL1-LC (huMA79b.v18)

<400> 178
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu

[0049]

```
  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> 人源化的抗体变体的 FR1-HC (huMA79b.v18)

```
<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> 人源化的抗体变体的 FR2-HC (huMA79b.v18)

```
<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> 人源化的抗体变体的 FR3-HC (huMA79b.v18)

```
<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
```

[0050]

<210> 182
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体的 FR4-HC (huMA79b.v18)

<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> 人源化的抗体变体的 HVR1-HC (huMA79b.v18)

<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> 人源化的抗体变体的 HVR2-HC (huMA79b.v18)

<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> 人源化的抗体变体的 HVR3-HC (huMA79b.v18)

<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> 人源化的抗体变体的 CH1-HC (huMA79b.v18)

<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

[0051]

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> 人源化的抗体变体的 Fc-HC (huMA79b.v18)

<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

[0052]

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> 人源化的抗体变体的LC-可变域 (huMA79b.v18)

<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> 人源化的抗体变体的HC-可变域 (huMA79b.v18)

<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

[0053]

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> 人源化的抗体变体的 FR1-LC (huMA79b.v28)

<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> 人源化的抗体变体的 FR2-LC (huMA79b.v28)

<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> 人源化的抗体变体的 FR3-LC (huMA79b.v28)

<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> 人源化的抗体变体的 FR4-LC (huMA79b.v28)

<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> 人源化的抗体变体的 HVR1-LC (huMA79b.v28)

<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> 人源化的抗体变体的 HVR2-LC (huMA79b.v28)

<400> 195
Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser
1 5

<210> 196
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

[0054]

<220>
<223> 人源化的抗体变体的 HVR3-LC (huMA79b.v28)

<400> 196
Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Leu Thr
1 5

<210> 197
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体的 CL1-LC (huMA79b.v28)

<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

[0055]

95 100 105

Cys

<210> 198
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体的 FR1-HC (huMA79b.v28)

<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> 人源化的抗体变体的 FR2-HC (huMA79b.v28)

<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> 人源化的抗体变体的 FR3-HC (huMA79b.v28)

<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> 人源化的抗体变体的 FR4-HC (huMA79b.v28)

<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>

[0056]

<223> 人源化的抗体变体的 HVR1-HC (huMA79b.v28)

<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> 人源化的抗体变体的 HVR2-HLC (huMA79b.v28)

<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> 人源化的抗体变体的 HVR3-HC (huMA79b.v28)

<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> 人源化的抗体变体的 CH1-HC (huMA79b.v28)

<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

[0057]

<210> 206
<211> 221
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体的 Fc-HC (huMA79b.V28)

<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)的LC-可变域

<400> 207
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val

[0058]

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> 人源化抗体的 HC-可变域(huMA79b.v28)

<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> 人源化的抗体变体的 FR1-LC (huMA79b.v32)

<400> 209

[0059]

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> 人源化的抗体变体的 FR2-LC (huMA79b.v32)

<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> 人源化的抗体变体的 FR3-LC (huMA79b.v32)

<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> 人源化的抗体变体的 FR4-LC (huMA79b.v32)

<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> 人源化的抗体变体的 HVR1-LC (huMA79b.v32)

<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

[0060]

<220>
<223> 人源化的抗体变体的 HVR2-LC (huMA79b.v32)

<400> 214
Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser
5

<210> 215
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体的 HVR3-LC (huMA79b.v32)

<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> 人源化的抗体变体的 CL1-LC (huMA79b.v32)

<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> 人源化的抗体变体的 FR1-HC (huMA79b.v32)

<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

[0061]

20 25

<210> 218
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体的 FR2-HC (huMA79b.v32)

<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> 人源化的抗体变体的 FR3-HC (huMA79b.v32)

<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> 人源化的抗体变体的 FR4-HC (huMA79b.v32)

<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> 人源化的抗体变体的 HVR1-HC (huMA79b.v32)

<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> 人源化的抗体变体的 HVR2-HC (huMA79b.v32)

<400> 222
Gly Glu Ile Leu Pro Gly Gly Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Glu Ile
1 5 10 15

[0062]

Phe Lys Gly

<210> 223
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体的 HVR3-HC (huMA79b.v32)

<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> 人源化的抗体变体的 CH1-HC (huMA79b.v32)

<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> 人源化的抗体变体的 Fc-HC (huMA79b.v32)

<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

[0063]

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> 人源化的抗体变体的 LC -可变域 (huMA79b.v32)

<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

[0064]

95 100 105

Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
110

<210> 227
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化的抗体变体的 HC-可变域 (huMA79b.v32)

<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) 变体 - 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

[0065]

```
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
```

[0066]

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) 变体 - 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

[0067]

<220>
<223> ThioMAb-huMA79b.v18-HC(A118C) 变体 - 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

[0068]

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) 变体 - 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

[0069]

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) 变体 - 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

[0070]

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) 变体 - LC

<400> 233
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
1 5 10 15

[0071]

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) 变体 - 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

[0072]

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

[0073]

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) 变体 - 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

[0074]

<210> 236
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ThioMAb-chMA79b- HC(A118C) 变体 - 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	

[0075]

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) 变体 - 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

[0076]

```
                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(Macaca fascicularis)

<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

[0077]

<210> 239
<211> 231
<212> PRT
<213> 食蟹猴(Macaca fascicularis)

<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> 嵌合的抗-cyno CD79b (ch10D10)- LC

<400> 240
acctcggttc tatcgattga attccaccat gggatggtca tgtatcatcc 50

[0078]

ttttctagt 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> 嵌合的抗-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	

[0079]

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> 嵌合的抗-cyno CD79b (ch10D10)- LC

<400> 242
cacctcggtt ctatcgattg aattccacca tgggatggtc atgtatcatc 50

cttttctag tagcaactgc aactggagta cattcagaag ttcagctgca 100

ggagtcggga cctggcctgg tgaaacctic tcagtctctg tccctcacct 150

gcactgtcac tggctactca atcaccagtg attatgcctg gaactggatc 200

cggcagtttc caggaaacaa actggagtgg atgggcaaca tatggtacag 250

tggtagcact acctacaacc catctctcaa aagtcgaatc tctatcactc 300

gagacacatc caagaaccag ttctttcctgc agttgaattc tgtgacttct 350

gaggacacag ccacatatta ctgttcaaga atggacttct ggggtcaagg 400

caccactctc acagtctcct cagcctccac caagggccca tcggtcttcc 450

cctggcacc 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

[0080]

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> 嵌合的抗-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

[0081]

```
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) 变体 - HC

[0082]

<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
```

[0083]

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) 变体 - 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

[0084]

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> 清蛋白结合肽

<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> 清蛋白结合肽

<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> 清蛋白结合肽

<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

[0085]

<220>
<223> 清蛋白结合肽

<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> 清蛋白结合肽

<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-变体

<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-变体

<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-变体

<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-变体

[0086]

<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-变体

<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-变体

<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-变体

<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-变体

<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-变体

<400> 259
Pro Pro Val Leu Asp Cys Asp Gly Ser Phe Phe
5 10

[0087]

<210> 260
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio-chMA79b HC-变体

<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-变体

<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-变体

<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-变体

<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-变体

<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

[0088]

<220>
<223> Thio-chMA79b HC-变体

<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-变体

<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-变体

<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-变体

<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-变体

<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-变体

<400> 270
Leu Ser Leu Thr Cys Cys Val Thr Gly Tyr Ser

[0089]

5 10

<210> 271
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio 抗-cynoCD79b(ch10D10)-HC-变体

<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-变体

<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-变体

<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-变体

<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-变体

<400> 275
Trp Tyr Val Asp Gly Cys Glu Val His Asn Ala
5 10

<210> 276
<211> 11
<212> PRT

[0090]

<213> 人工序列

<220>
<223> Thio 抗-cynoCD79b(ch10D10)-HC-变体

<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-变体

<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-变体

<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-变体

<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-变体

<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-变体

[0091]

<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-变体

<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-变体

<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-变体

<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-变体

<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-变体

<400> 286
Glu Leu Lys Arg Thr Cys Ala Ala Pro Ser Val
5 10

<210> 287

[0092]

<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio-chMA79b LC-变体

<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-变体

<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-变体

<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-变体

<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-变体

<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>

[0093]

<223> Thio 抗-cynoCD79b(ch10D10)-HC-变体

<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-变体

<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-变体

<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-cyno CD79b(ch10D10)-HC-变体

<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-变体

<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-cyno CD79b(ch10D10)-HC-变体

<400> 297
Val Thr Glu Gln Asp Cys Lys Asp Ser Thr Tyr
5 10

[0094]

<210> 298
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Thio 抗-cynoCD79b(ch10D10)-HC-变体

<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) 变体 - 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

[0095]

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) 变体 - 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

[0096]

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的可变域

<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

[0097]

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
110

<210> 302
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-cyno CD79b (ch10D10) - LC 的可变域

<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 的轻链

<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

[0098]

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 的重链

<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

[0099]

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

[0100]

<220>
<223> huMA79bv.18的轻链

<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的重链

<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

[0101]

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

[0102]

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 的轻链

<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

[0103]

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 的重链

<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

[0104]

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 的轻链

<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

[0105]

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的重链

<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

[0106]

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

CAGGGGACAGGCTGCAGCCGGTGCAGTTACACGTTTTCCTCCAAGGAGCCTCGGACGTTG
TCACGGGTTTGGGGTCGGGGACAGAGCAGTGACCATGGCCAGGCTGGCGTTGTCTCCTGT
GCCCAGCCACTGGATGGTGGCGTTGCTGCTGCTGCTCTCAGCTGAGCCAGTACCAGCAGC
CAGATCGGAGGACCGGTACCGGAATCCCAAAGGTAGTGCTTGTTCGCGGATCTGGCAGAG
CCCACGTTTCATAGCCAGGAAACGGGGCTTCACGGTGAAAATGCACTGCTACATGAACAG
CGCCTCCGGCAATGTGAGCTGGCTCTGGAAGCAGGAGATGGACGAGAATCCCCAGCAGCT
GAAGCTGGAAAAGGGCCGCATGGAAGAGTCCCAGAACGAATCTCTCGCCACCCTCACCAT
CCAAGGCATCCGGTTTGAGGACAATGGCATCTACTTCTGTCAGCAGAAGTGCAACAACAC
CTCGGAGGTCTACCAGGGCTGCGGCACAGAGCTGCGAGTCATGGGATTCAGCACCTTGGC
ACAGCTGAAGCAGAGGAACACGCTGAAGGATGGTATCATCATGATCCAGACGCTGCTGAT
CATCCTCTTCATCATCGTGCCTATCTTCCTGCTGCTGGACAAGGATGACAGCAAGGCTGG
CATGGAGGAAGATCACACCTACGAGGGCCTGGACATTGACCAGACAGCCACCTATGAGGA
CATAGTGACGCTGCGGACAGGGGAAGTGAAGTGGTCTGTAGGTGAGCACCCAGGCCAGGA
GTGAGAGCCAGGTCGCCCCATGACCTGGGTGCAGGCTCCCTGGCCTCAGTGACTGCTTCG
GAGCTGCCTGGCTCATGGCCCAACCCCTTTCCTGGACCCCCCAGCTGGCCTCTGAAGCTG
GCCCACCAGAGCTGCCATTTGTCTCCAGCCCCTGGTCCCCAGCTCTTGCCAAAGGGCCTG
GAGTAGAAGGACAACAGGGCAGCAACTTGGAGGGAGTTCTCTGGGGATGGACGGGACCCA
GCCTTCTGGGGGTGCTATGAGGTGATCCGTCCCCACACATGGGATGGGGGAGGCAGAGAC
TGGTCCAGAGCCCGCAAATGGACTCGGAGCCGAGGGCCTCCCAGCAGAGCTTGGGAAGGG
CCATGGACCCAACTGGGCCCCAGAAGAGCCACAGGAACATCATTCCTCTCCCGCAACCAC
TCCCACCCCAGGGAGGCCCTGGCCTCCAGTGCCTTCCCCCGTGGAATAAACGGTGTGTCC
TGAGAAACCA

图 1

DNA225786

MARLALSPVPSHWMVALLLLLSAEPVPAARSEDRYRNPKGSACSRIWQSPRFIARKRGFT
VKMHCYMNSASGNVSWLWKQEMDENPQQLKLEKGRMEESQNESLATLTIQGIRFEDNGIY
FCQQKCNNTSEVYQGCGTELRVMGFSTLAQLKQRNTLKDGIIMIQTLLIILFIIVPIFLL
LDKDDSKAGMEEDHTYEGLDIDQTATYEDIVTLRTGEVKWSVGEHPGQE

信号序列
氨基酸 1-28.

跨膜结构域
氨基酸 5-25, 159-179.

免疫球蛋白结构域
氨基酸 58-124.

免疫受体基于酪氨酸的活化基序
氨基酸 193-213.

N-糖基化位点
氨基酸 73-76, 101-104, 127-130, 128-131.

蛋白激酶 C 磷酸化位点
氨基酸 49-51, 60-62, 156-158, 212-214.

酪蛋白激酶 II 磷酸化位点
氨基酸 99-102, 156-159, 206-209, 221-224.

酪氨酸激酶磷酸化位点
氨基酸 113-120.

N-肉豆蔻酰化位点
氨基酸 40-45, 118-123.

图 2

嵌合抗人 CD79b（chMA79b）轻链

CACTCCCAGCTCCAACTGCACCTCGGTTCTATCGATTGAATTCCACC**ATG**GGATGGTCATGT
ATCATCCTTTTTCTAGTAGCAACTGCAACTGGAGTACATTCAGATATCGTGCTGACCCAATC
TCCAGCTTCTTTGGCTGTGTCTCTGGGGCAGAGGGCCACCATCTCCTGCAAGGCCAGCCAAA
GTGTTGATTATGATGGTGATAGTTTTTTGAACTGGTACCAACAGAAACCAGGACAGCCACCC
AAACTCTTCATCTATGCTGCATCCAATCTAGAATCTGGGATCCCAGCCAGGTTTAGTGGCAG
TCGGTCTGGGACAGACTTCACCCTCAACATCCATCCTGTGGAGGAGGAGGATGCTGCAACCT
ATTACTGTCAGCAAAGTAATGAGGATCCGCTCACGTTCGGGGCAGGCACCGAGCTGGAACTC
AAACGGACCGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATC
TGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGT
GGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGC
AAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACA
CAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCA
ACAGGGGAGAGTGT**TAA**GCTTGGCCGCCATGGCCCAACTTGTTTATTGCAGCTTATAATGGT
TACAAATAAAGCAATAGCATCACAAATTTCACAAATAAAGCATTTTTTTCACTGCATTCTAG
TTGTGGTTTGTCCAAACTCATCAATGTATCTTATCATGTCTGGATCGGGAATTAATTCGGC

图 3

嵌合抗人 CD79b（chMA79b）轻链

DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSFLNWYQQKPGQPPKLFIYAASNLES
GIPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQQSNEDPLTFGAGTELELKRTVAAPSVF
IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS
STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图 4

嵌合抗人 CD79b（chMA79b）重链

TCGGTTCTATCGATTGAATTCCACC**ATG**GGATGGTCATGTATCATCCTTTTTCTAGTAGCAA
CTGCAACTGGAGTACATTCAGAAGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGGGCTGAACTGATGAAGCCT
GGGGCCTCAGTGAAGATATCCTGCAAGGCTACTGGCTACACATTCAGTAGTTACTGGATAGA
GTGGGTAAAGCAGAGGCCTGGACATGGCCTTGAGTGGATTGGAGAGATTTTACCTGGAGGTG
GTGATACTAACTACAATGAGATTTTCAAGGGCAAGGCCACATTCACTGCAGATACATCCTCC
AACACAGCCTACATGCAACTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCCGTCTATTACTGTAC
AAGACGAGTACCGGTTTACTTTGACTACTGGGGCCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAG
CCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGC
ACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAA
CTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCT
ACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACTGTGCCCTCTAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGC
AACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGA
CAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC
TCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTG
GTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGA
GGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCA
GCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCC
AACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGA
ACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGA
CCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG
CCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTA
CAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA
TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA**TGA**
GTGCGACGGCCCTAGAGTCGACCTGCAGAAGCTTGGCCGCCAT

图 5

嵌合抗人 CD79b（chMA79b）重链

EVQLQQSGAELMKPGASVKISCKATGYTFSSYWIEWVKQRPGHGLEWIGEILPGGGDTNY
NEIFKGKATFTADTSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYYCTRRVPVYFDYWGQGTSVTVSSAST
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV
FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

图 6

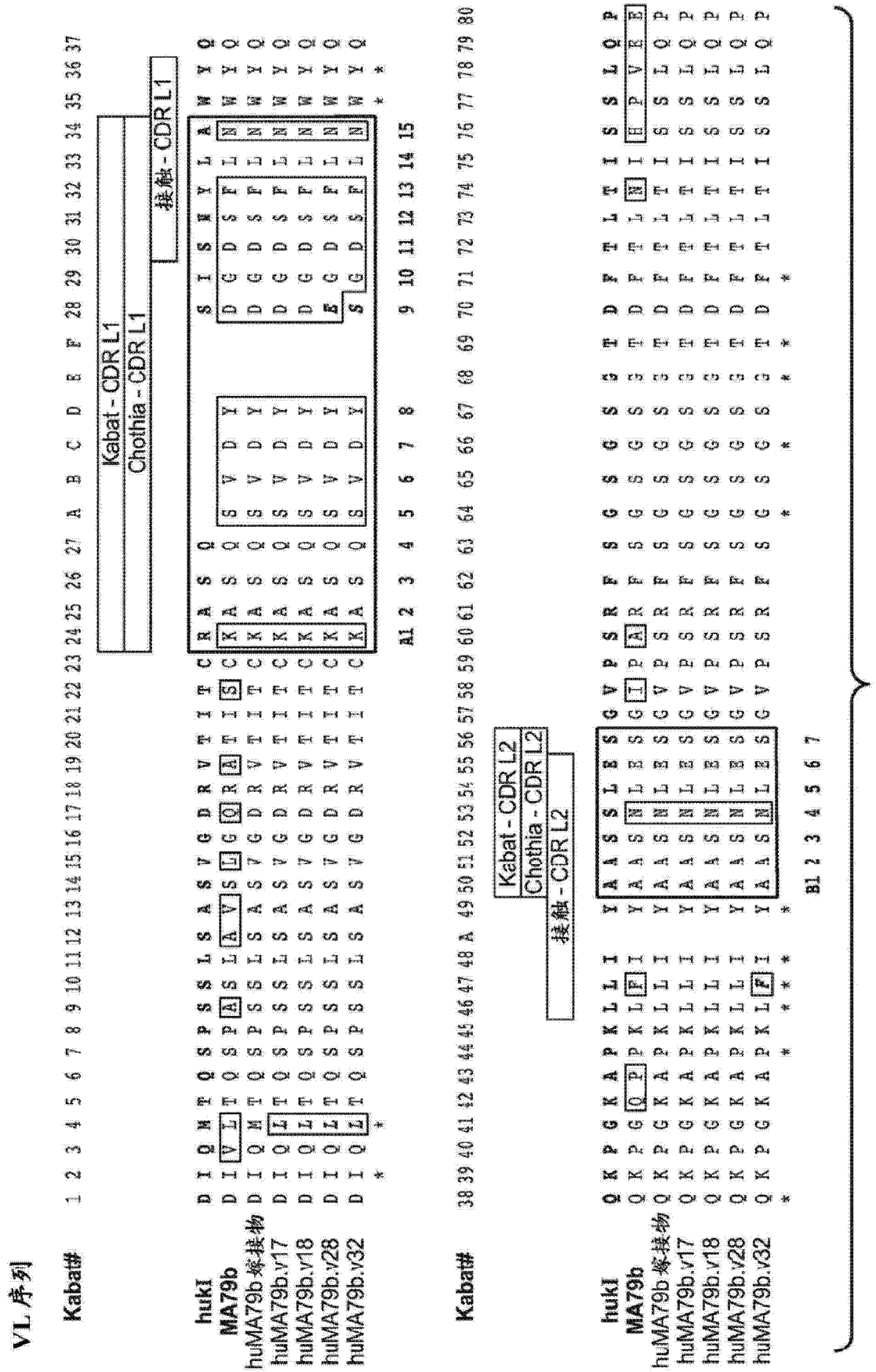

VL 序列
Kabat - CDR L1
Chothia - CDR L1
接触 - CDR L1
Kabat - CDR L2
Chothia - CDR L2
接触 - CDR L2
huKI
MA79b
huMA79b 嫁接物
huMA79b.v17
huMA79b.v18
huMA79b.v28
huMA79b.v32

图 7A

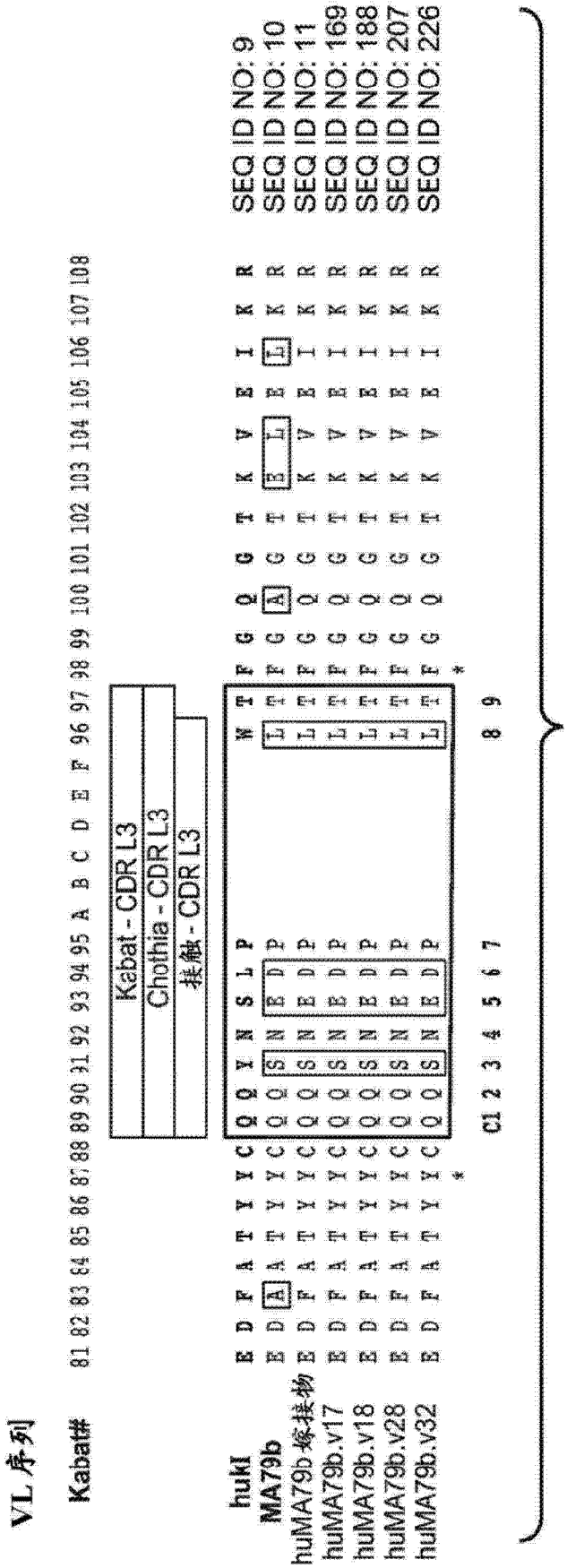

VL 序列
Kabat#
81 82 83 64 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 A B C D E F 96 97 98 99 100 101 102 103 104 105 106 107 108
Kabat - CDR L3
Chothia - CDR L3
接触 - CDR L3
huKI
MA79b
huMA79b 嫁接物
huMA79b.v17
huMA79b.v18
huMA79b.v28
huMA79b.v32
E D F A T Y Y C Q Q Y N S L P W T F G Q G T K V E I K R
E D A F A T Y Y C Q Q S N E D P L T F G Q G T K V E I K R
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
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
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
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
C1 2 3 4 5 6 7 8 9
SEQ ID NO: 9
SEQ ID NO: 10
SEQ ID NO: 11
SEQ ID NO: 169
SEQ ID NO: 188
SEQ ID NO: 207
SEQ ID NO: 226

图 7B

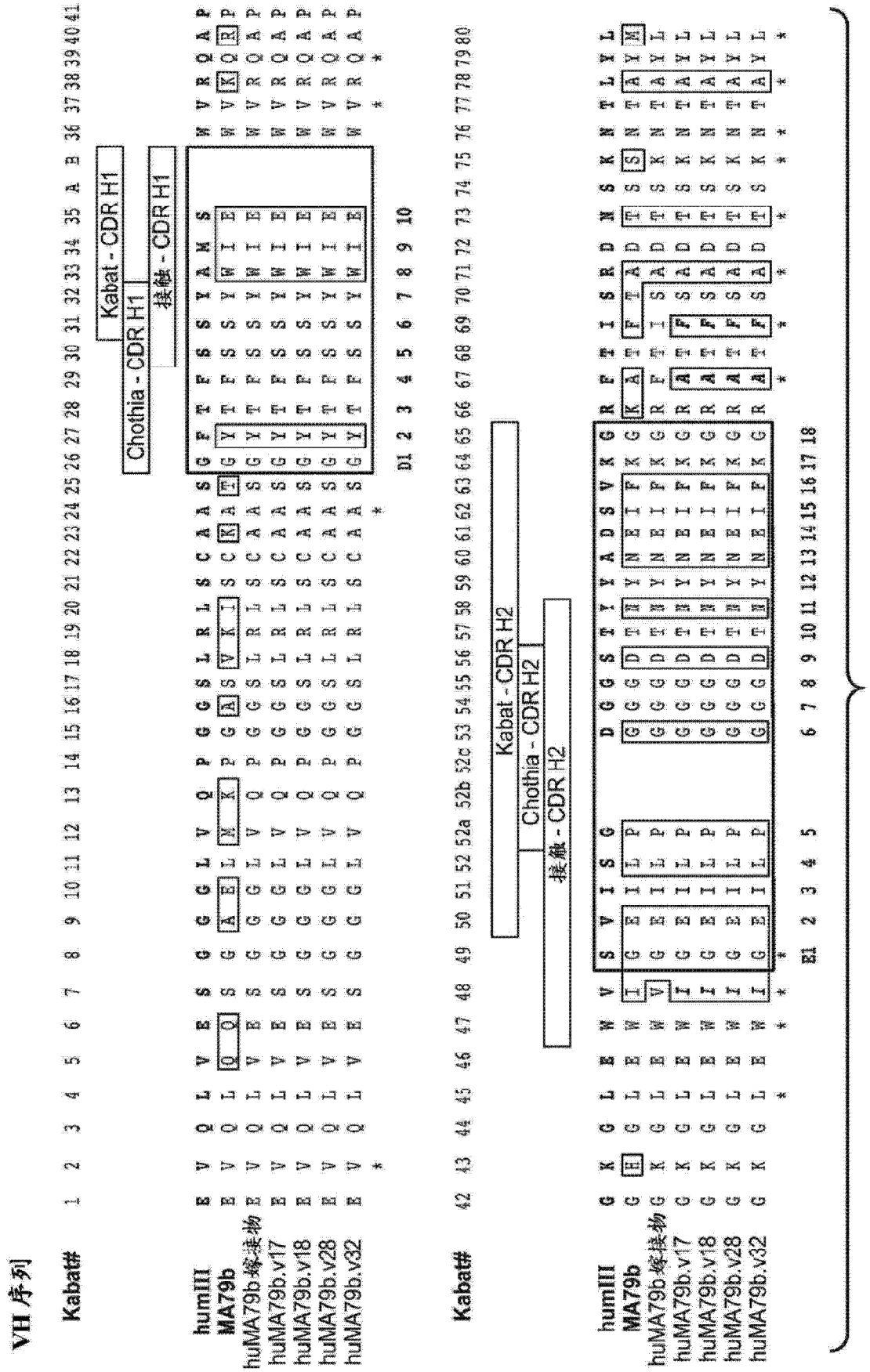

VH 序列
Kabat - CDR H1
Chothia - CDR H1
接触 - CDR H1
Kabat - CDR H2
Chothia - CDR H2
接触 - CDR H2
humIII
MA79b
huMA79b嫁接物
huMA79b.v17
huMA79b.v18
huMA79b.v28
huMA79b.v32

图 8A

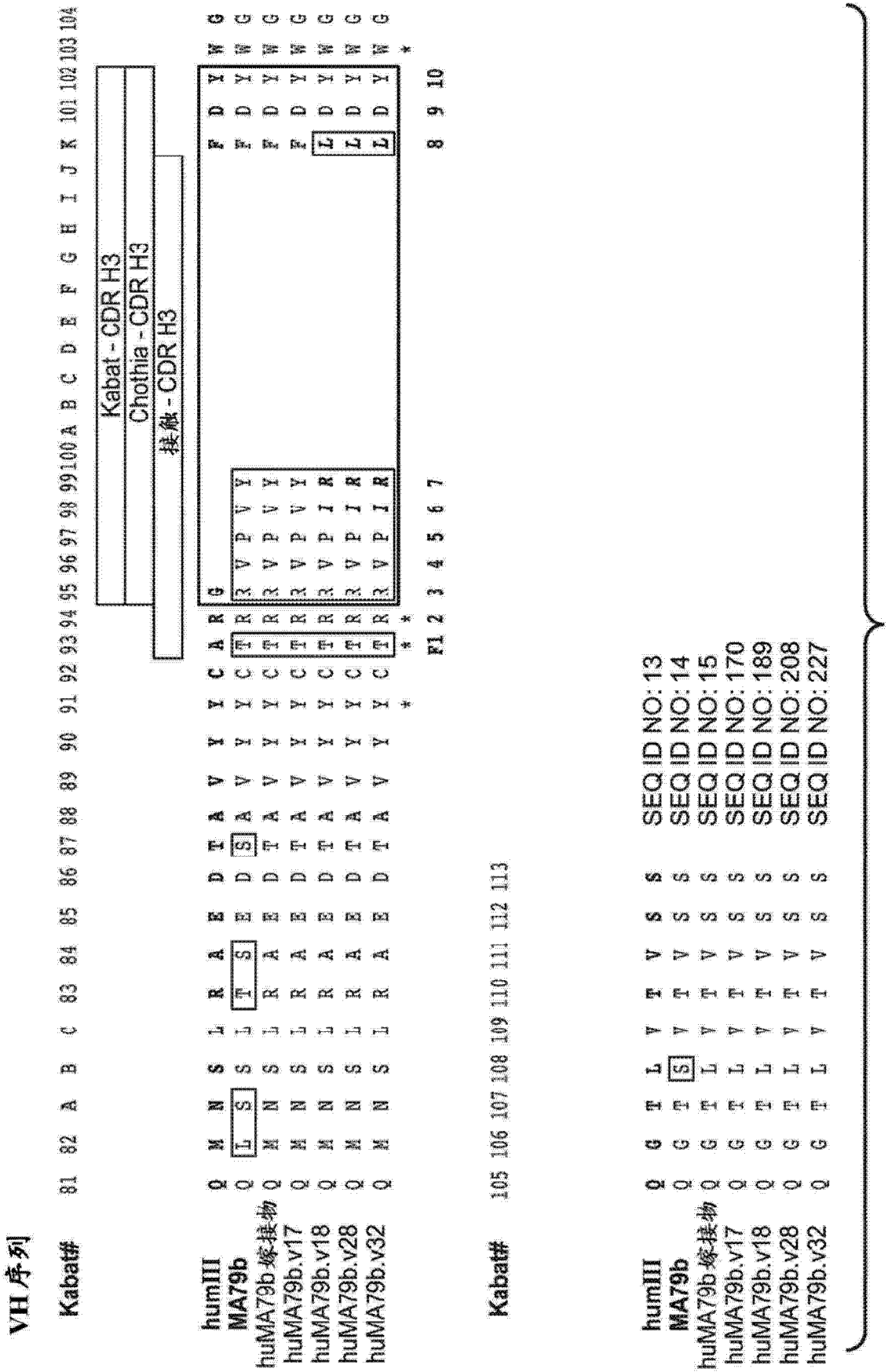

VH 序列
Kabat - CDR H3
Chothia - CDR H3
接触 - CDR H3
Kabat#
humIII
MA79b
huMA79b 嫁接物
huMA79b.v17
huMA79b.v18
huMA79b.v28
huMA79b.v32
SEQ ID NO: 13
SEQ ID NO: 14
SEQ ID NO: 15
SEQ ID NO: 170
SEQ ID NO: 189
SEQ ID NO: 208
SEQ ID NO: 227

图 8B

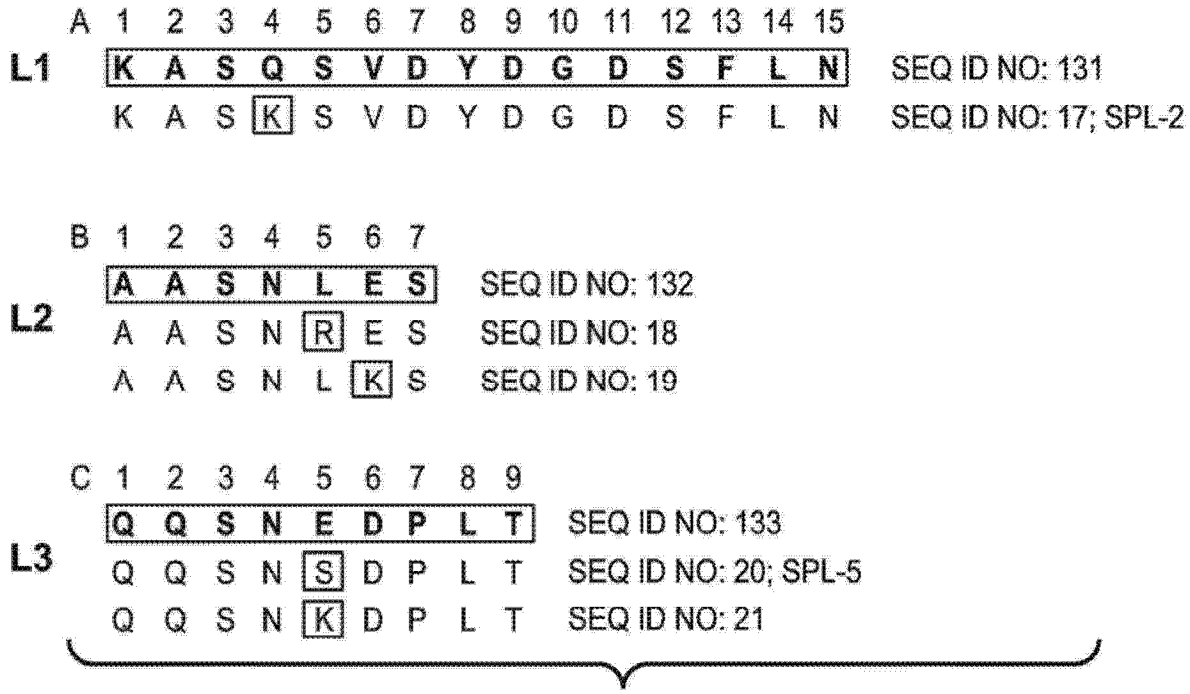


图 9

	Biacore KD (nM)		
MA79b 变体 IgG	Fab	IgG	固定化的抗原
MA79b	200	2	hu CD79b.ecd-Fc
		4.7	hu CD79b.ecd
hu MA79b 嫁接物		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	16 聚物肽

图 11

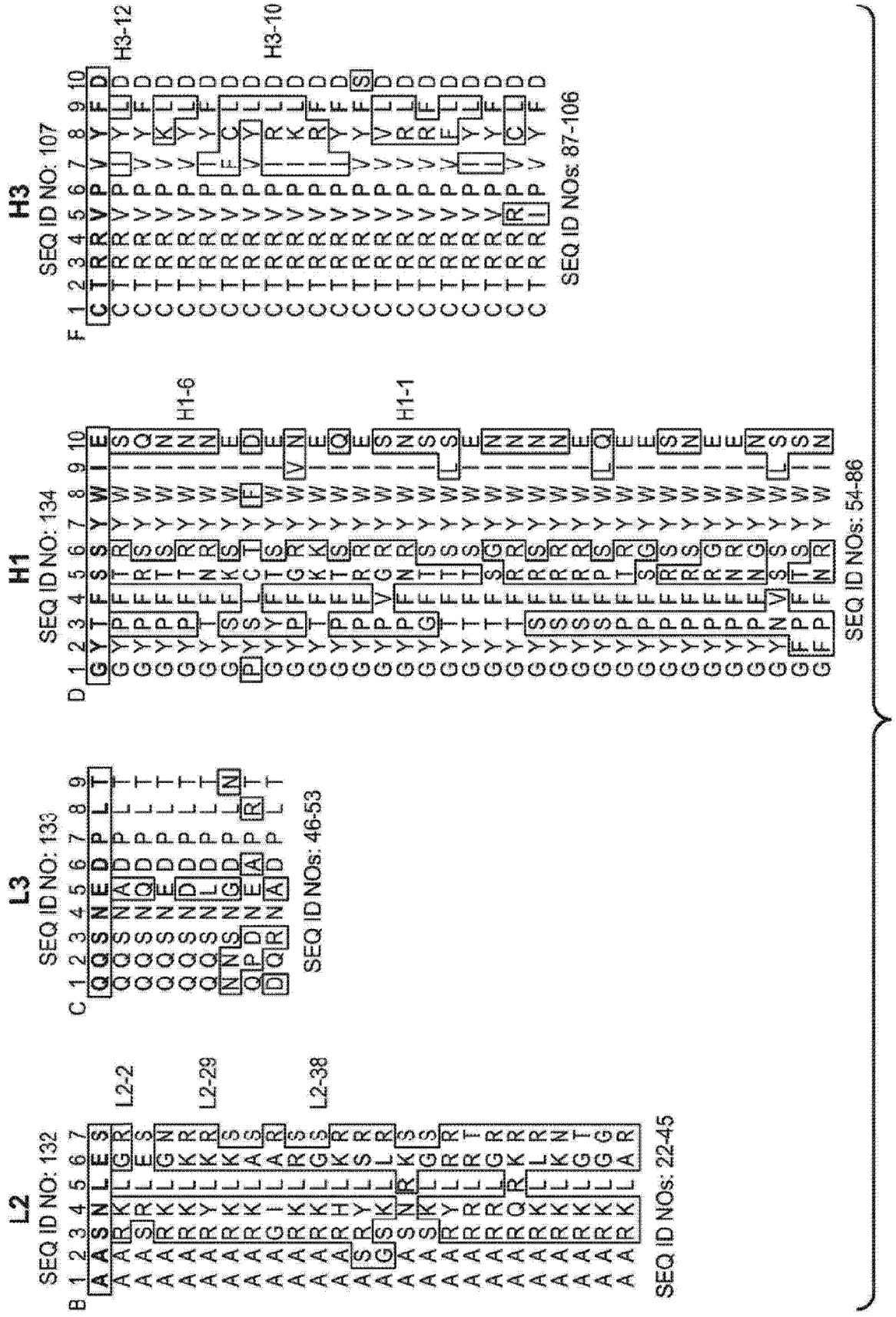

H3
SEQ ID NO: 107
SEQ ID NOs: 87-106
H3-12
H3-10
H1
SEQ ID NO: 134
SEQ ID NOs: 54-86
H1-6
H1-1
L3
SEQ ID NO: 133
SEQ ID NOs: 46-53
L2
SEQ ID NO: 132
SEQ ID NOs: 22-45
L2-2
L2-29
L2-38

图 10

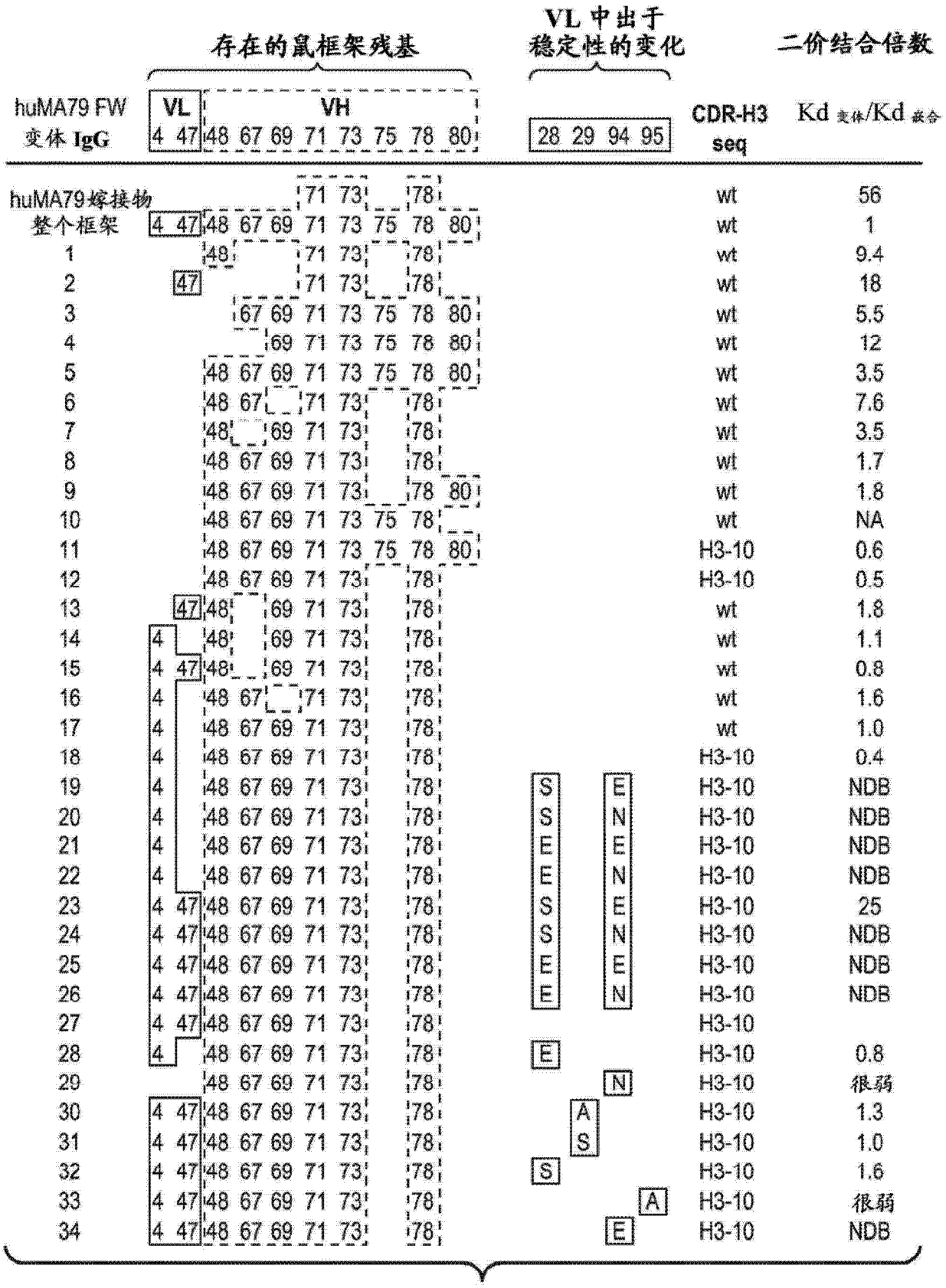

存在的鼠框架残基
VL 中出于稳定性的变化
二价结合倍数
huMA79 FW 变体 IgG
VL
VH
4 47 48 67 69 71 73 75 78 80
28 29 94 95
CDR-H3 seq
Kd 变体/Kd 嵌合
huMA79嫁接物 wt 56
整个框架 wt 1
1 wt 9.4
2 wt 18
3 wt 5.5
4 wt 12
5 wt 3.5
6 wt 7.6
7 wt 3.5
8 wt 1.7
9 wt 1.8
10 wt NA
11 H3-10 0.6
12 H3-10 0.5
13 wt 1.8
14 wt 1.1
15 wt 0.8
16 wt 1.6
17 wt 1.0
18 H3-10 0.4
19 S E H3-10 NDB
20 S N H3-10 NDB
21 E E H3-10 NDB
22 E N H3-10 NDB
23 S E H3-10 25
24 S N H3-10 NDB
25 E E H3-10 NDB
26 E N H3-10 NDB
27 H3-10
28 E H3-10 0.8
29 N H3-10 很弱
30 A H3-10 1.3
31 S H3-10 1.0
32 S H3-10 1.6
33 A H3-10 很弱
34 E H3-10 NDB

图 12

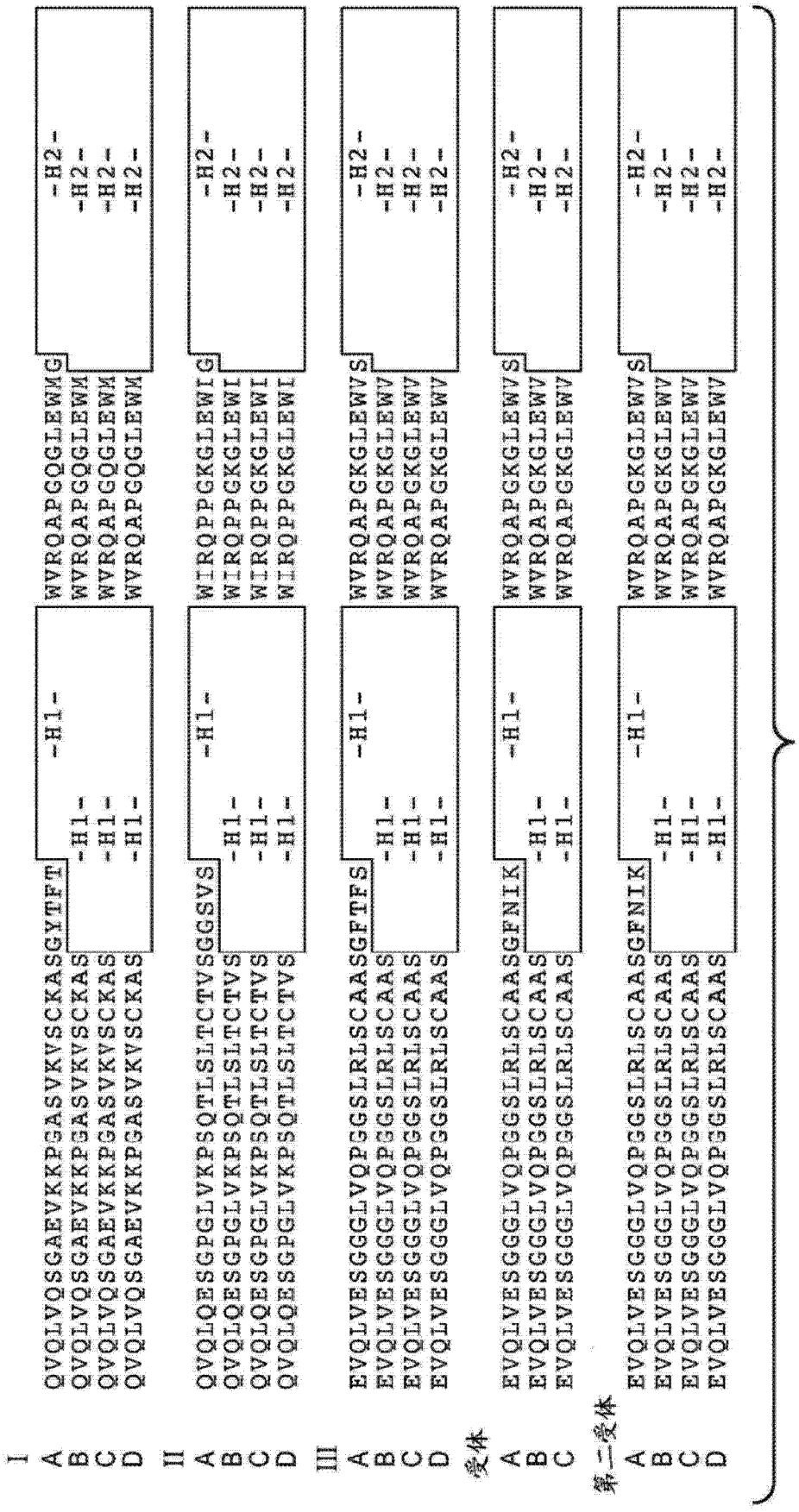

I
A QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT -H1- WVRQAPGQGLEWMG -H2-
B QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS -H1- WVRQAPGQGLEWM -H2-
C QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS -H1- WVRQAPGQGLEWM -H2-
D QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS -H1- WVRQAPGQGLEWM -H2-
II
A QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSVS -H1- WIRQPPGKGLEWIG -H2-
B QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVS -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-
受体
A EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIK -H1- WVRQAPGKGLEWVS -H2-
B EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS -H1- WVRQAPGKGLEWV -H2-
C EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS -H1- WVRQAPGKGLEWV -H2-
第二受体
A EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIK -H1- WVRQAPGKGLEWVS -H2-
B EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS -H1- WVRQAPGKGLEWV -H2-
C EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS -H1- WVRQAPGKGLEWV -H2-
D EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS -H1- WVRQAPGKGLEWV -H2-

图 13A

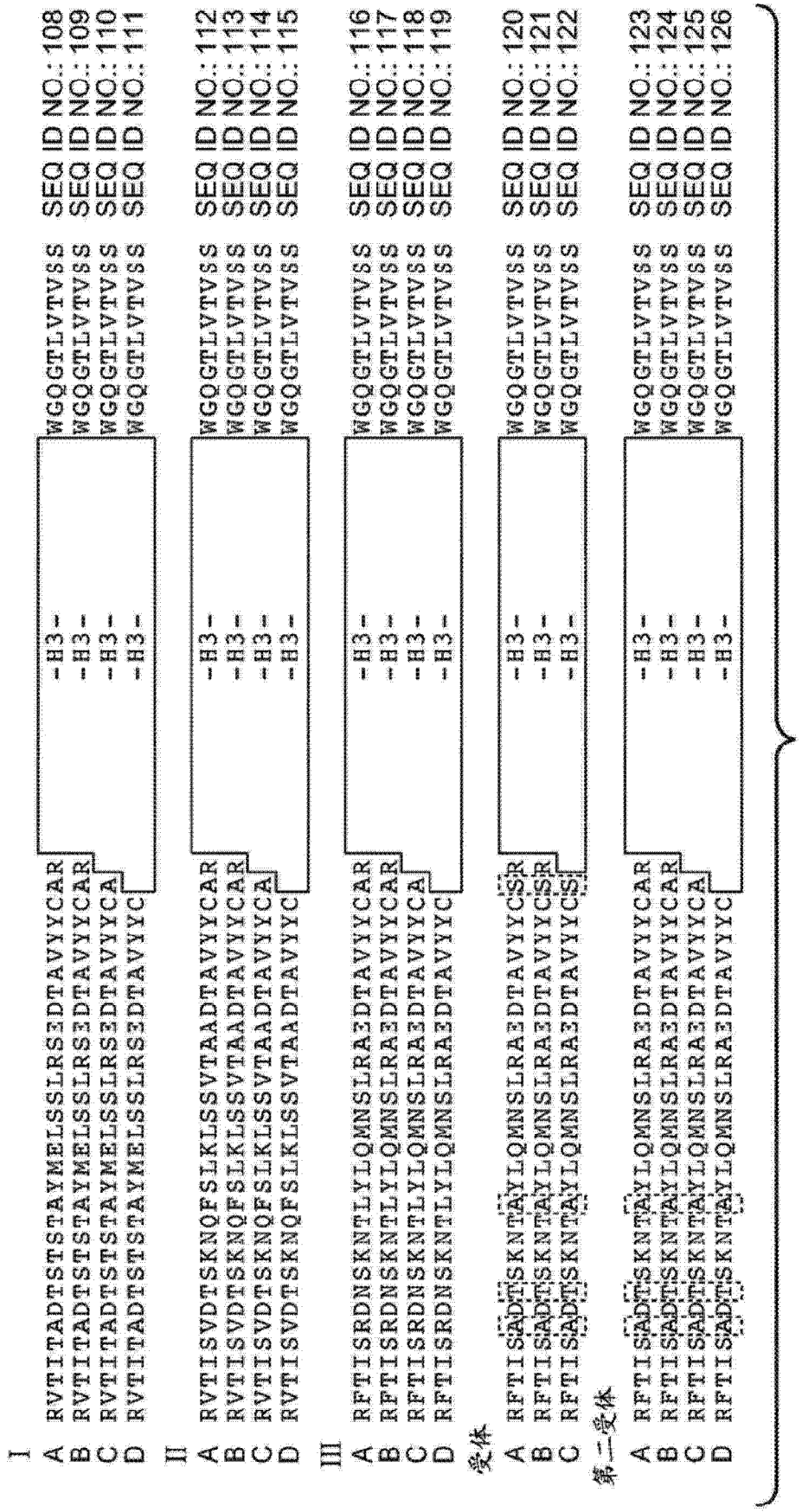

I
A RVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR -H3- WGQGTLVTVSS SEQ ID NO.: 108
B RVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR -H3- WGQGTLVTVSS SEQ ID NO.: 109
C RVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA -H3- WGQGTLVTVSS SEQ ID NO.: 110
D RVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC -H3- WGQGTLVTVSS SEQ ID NO.: 111
II
A RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR -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
受体
A RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSR -H3- WGQGTLVTVSS SEQ ID NO.: 120
B RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSR -H3- WGQGTLVTVSS SEQ ID NO.: 121
C RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCS -H3- WGQGTLVTVSS SEQ ID NO.: 122
第二受体
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

图 13B

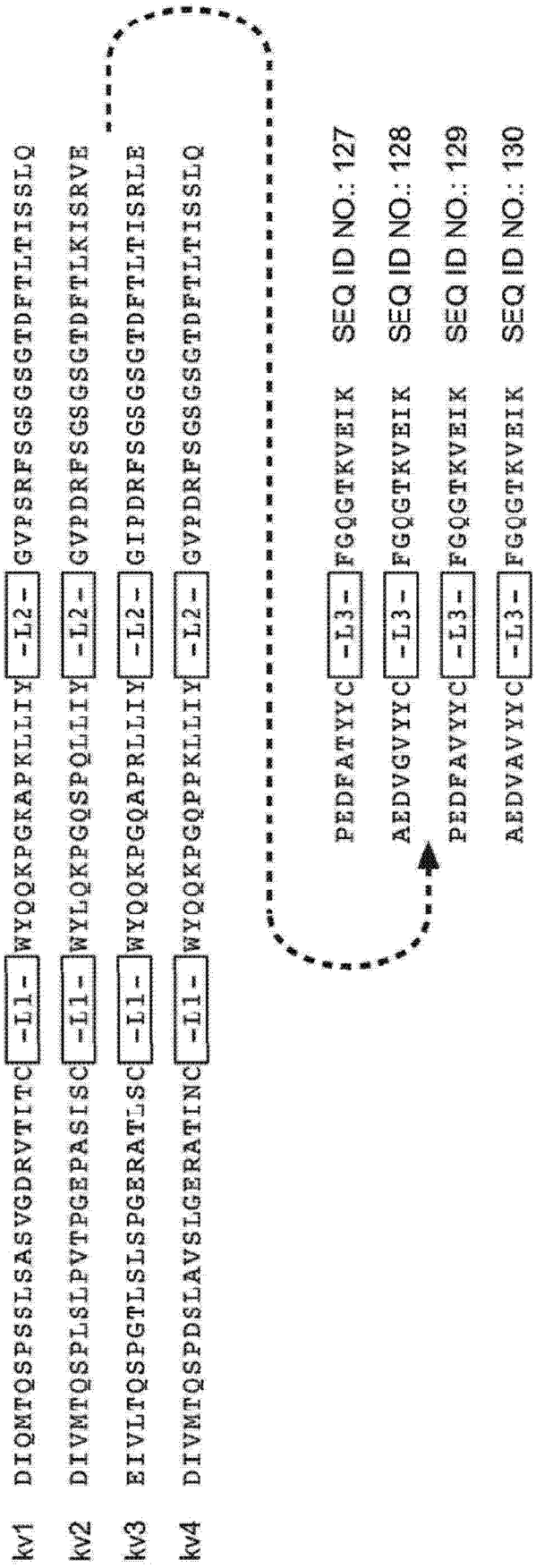

kv1 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC -L1- WYQQKPGKAPKLLIY -L2- GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ
kv2 DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC -L1- WYLQKPGQSPQLLIY -L2- GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVE
kv3 EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC -L1- WYQQKPGQAPRLLIY -L2- GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLE
kv4 DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC -L1- WYQQKPGQPPKLLIY -L2- GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQ
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

图 14

A. huMA79b.v17 轻链

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)

轻链:

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVDYDGDSFLNWYQQKPGKAPKLLIYAASNLESGVPSRFSGS
GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC
LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS
PVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 303)

LC-可变域:

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVDYDGDSFLNWYQQKPGKAPKLLIYAASNLESGVPSRFSGS
GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPLTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 169)

B. huMA79b.v17 重链

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)

重链:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSSYWIEWVRQAPGKGLEWIGEILPGGGDTNYNEIFKGRAT
FSADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRVPVYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG
TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS
NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 304)

HC-可变域:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSSYWIEWVRQAPGKGLEWIGEILPGGGDTNYNEIFKGRAT
FSADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRVPVYFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 170)

图 15

A. huMA79b.v18 轻链

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)

轻链:

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVDYDGDSFLNWYQQKPGKAPKLLIYAASNLESGVPSRFSGS
GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC
LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS
PVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 305)

LC-可变域:

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVDYDGDSFLNWYQQKPGKAPKLLIYAASNLESGVPSRFSGS
GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPLTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 188)

B. huMA79b.v18 重链

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)

重链:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSSYWIEWVRQAPGKGLEWIGEILPGGGDTNYNEIFKGRAT
FSADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRVPIRLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG
TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS
NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 306)

HC-可变域:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSSYWIEWVRQAPGKGLEWIGEILPGGGDTNYNEIFKGRAT
FSADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRVPIRLDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 189)

图 16

A. huMA79b.v28 轻链

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)

轻链:

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVDYEGDSFLNWYQQKPGKAPKLLIYAASNLESGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 307)

B. huMA79b.v28 重链

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)

重链:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSSYWIEWVRQAPGKGLEWIGEILPGGGDTNYNEIFKGRA TFSADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRVPIRLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 308)

图 17

A. huMA79b.v32 轻链

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)

轻链:

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVDYSGDSFLNWYQQKPGKAPKLFIYAASNLESGVPSRFSGS
GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC
LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS
PVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 309)

LC-可变域:

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVDYSGDSFLNWYQQKPGKAPKLFIYAASNLESGVPSRFSGS
GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPLTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 226)

B. huMA79b.v32 重链

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)

重链:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSSYWIEWVRQAPGKGLEWIGEILPGGGDTNYNEIFKGRAT
FSADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRVPIRLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG
TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS
NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 310)

HC-可变域:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSSYWIEWVRQAPGKGLEWIGEILPGGGDTNYNEIFKGRAT
FSADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRVPIRLDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 227)

图 18

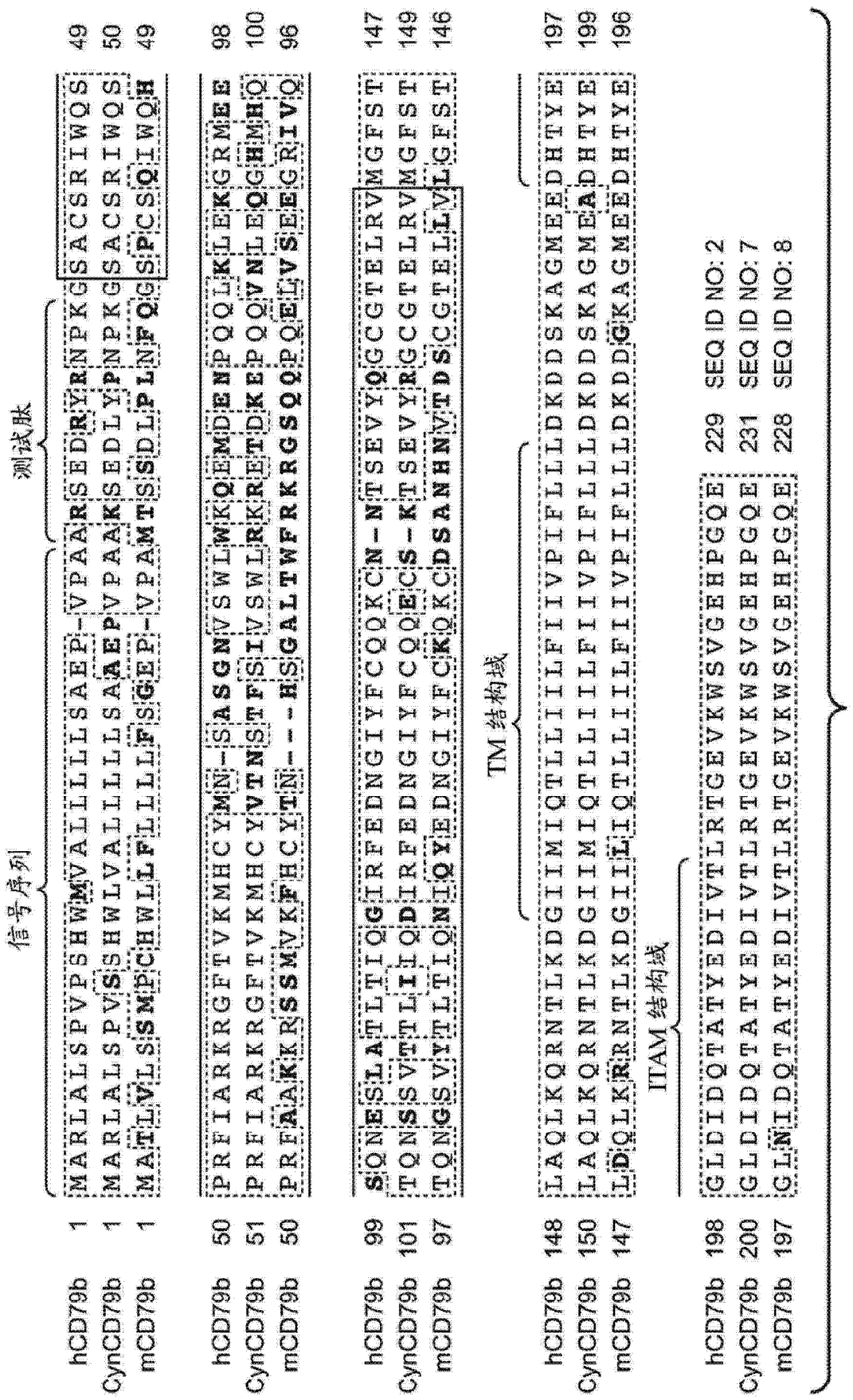

信号序列
测试肽
TM 结构域
ITAM 结构域
hCD79b 1 MARLALSPVPSHWMVALLLLLSAEP-VPAARSEDRYRNPKGSACSRIWQS 49
CynCD79b 1 MARLALSPVSSHWLVALLLLLSAAEPVPAAKSEDLYPNPKGSACSRIWQS 50
mCD79b 1 MATLVLSSMPCHWLLFLLLLFSGEP-VPAMTSSDLPLNFQGSPCSQIWQH 49
hCD79b 50 PRFIARKRGFTVKMHCYMN-SASGNVSWLWKQEMDENPQQLKLEKGRMEE 98
CynCD79b 51 PRFIARKRGFTVKMHCYVTNSTFSIVSWLRKRETDKEPQQVNLEQGHMHQ 100
mCD79b 50 PRFAAKKRSSMVKFHCYTN---HSGALTWFRKRGSQQPQELVSEEGRIVQ 96
hCD79b 99 SQNESLATLTIQGIRFEDNGIYFCQQKCN-NTSEVYQGCGTELRVMGFST 147
CynCD79b 101 TQNSSVTTLIIQDIRFEDNGIYFCQQECS-KTSEVYRGCGTELRVMGFST 149
mCD79b 97 TQNGSVYTLTIQNIQYEDNGIYFCKQKCDSANHNVTDSCGTELLVLGFST 146
hCD79b 148 LAQLKQRNTLKDGIIMIQTLLIILFIIVPIFLLLDKDDSKAGMEEDHTYE 197
CynCD79b 150 LAQLKQRNTLKDGIIMIQTLLIILFIIVPIFLLLDKDDSKAGMEADHTYE 199
mCD79b 147 LDQLKRNTLKDGIILIQTLLIILFIIVPIFLLLDKDDGKAGMEEDHTYE 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

图 19

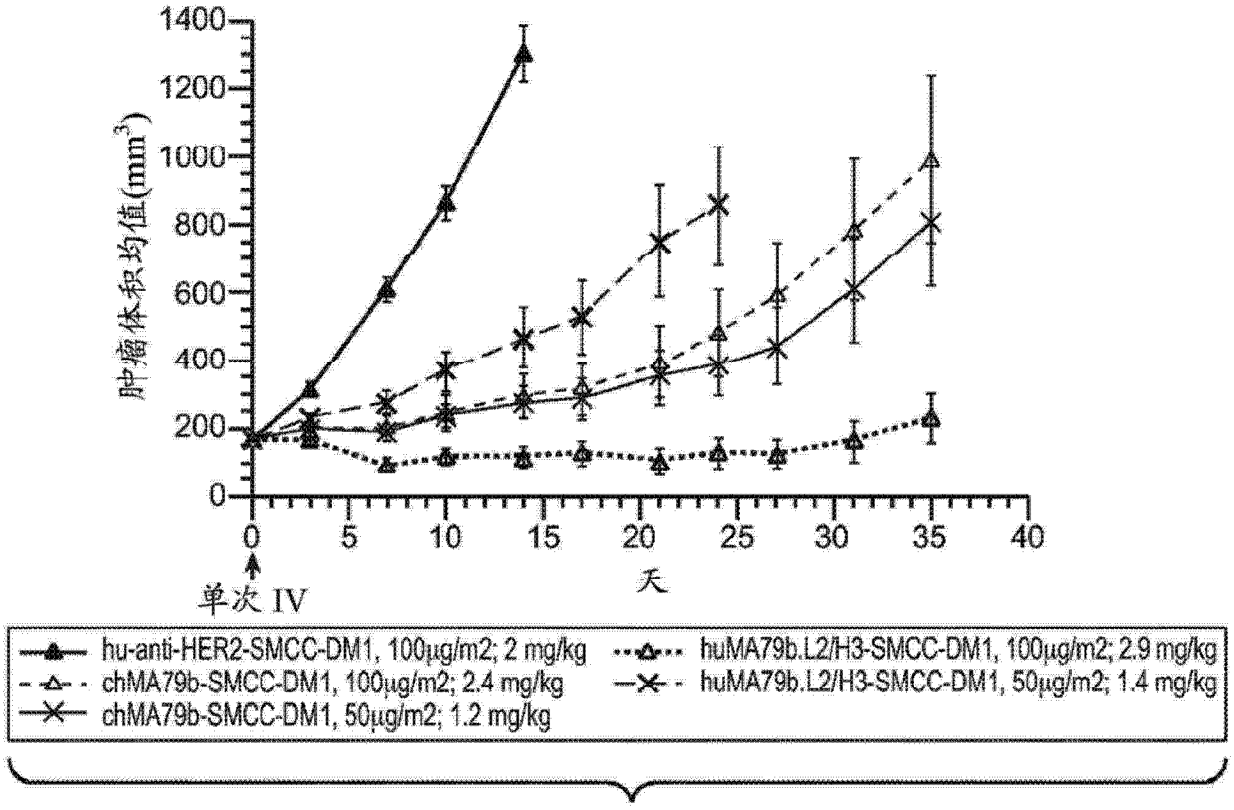

1400
1200
1000
800
600
400
200
0
肿瘤体积均值(mm3)
0
5
10
15
20
25
30
35
40
天
单次 IV
hu-anti-HER2-SMCC-DM1, 100μg/m2; 2 mg/kg
chMA79b-SMCC-DM1, 100μg/m2; 2.4 mg/kg
chMA79b-SMCC-DM1, 50μg/m2; 1.2 mg/kg
huMA79b.L2/H3-SMCC-DM1, 100μg/m2; 2.9 mg/kg
huMA79b.L2/H3-SMCC-DM1, 50μg/m2; 1.4 mg/kg

图 20

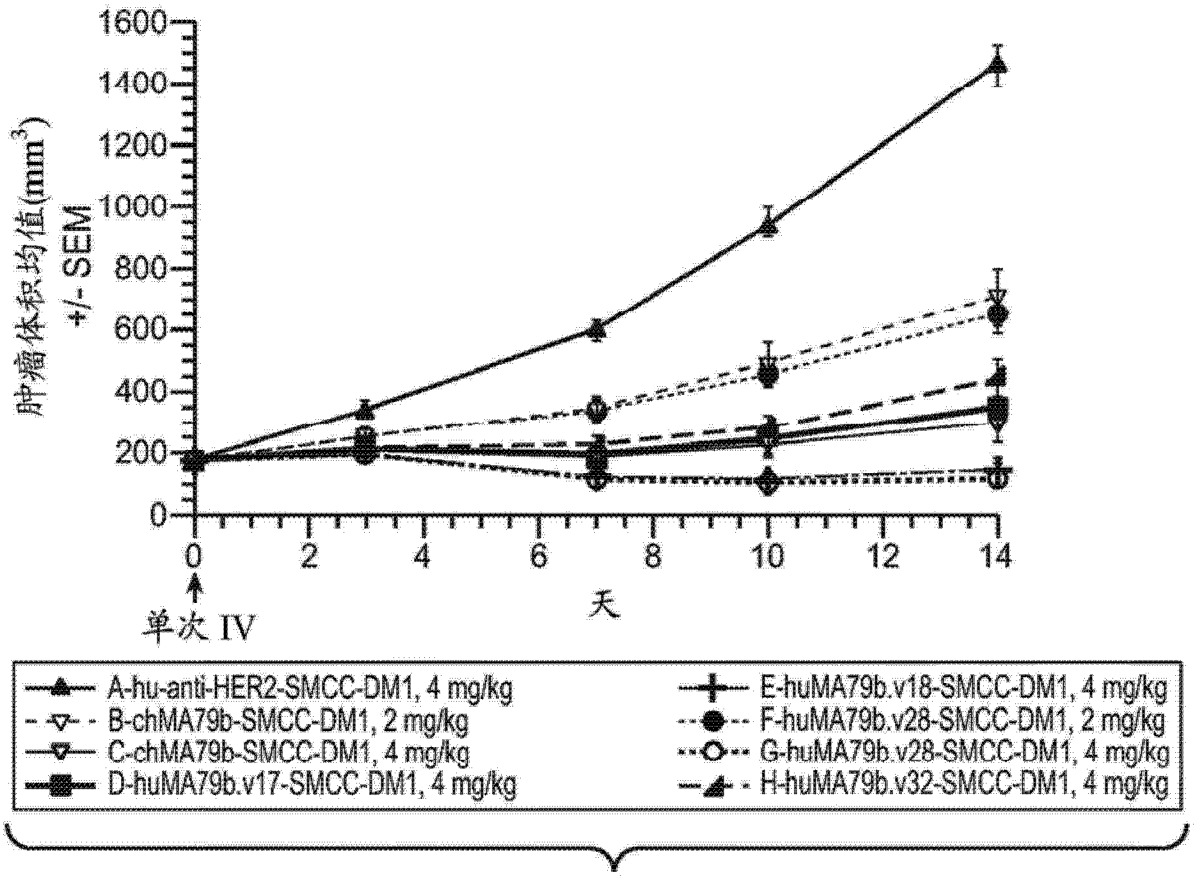

肿瘤体积均值(mm3)
+/- SEM
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
0
2
4
6
8
10
12
14
天
单次 IV
A-hu-anti-HER2-SMCC-DM1, 4 mg/kg
B-chMA79b-SMCC-DM1, 2 mg/kg
C-chMA79b-SMCC-DM1, 4 mg/kg
D-huMA79b.v17-SMCC-DM1, 4 mg/kg
E-huMA79b.v18-SMCC-DM1, 4 mg/kg
F-huMA79b.v28-SMCC-DM1, 2 mg/kg
G-huMA79b.v28-SMCC-DM1, 4 mg/kg
H-huMA79b.v32-SMCC-DM1, 4 mg/kg

图 21A

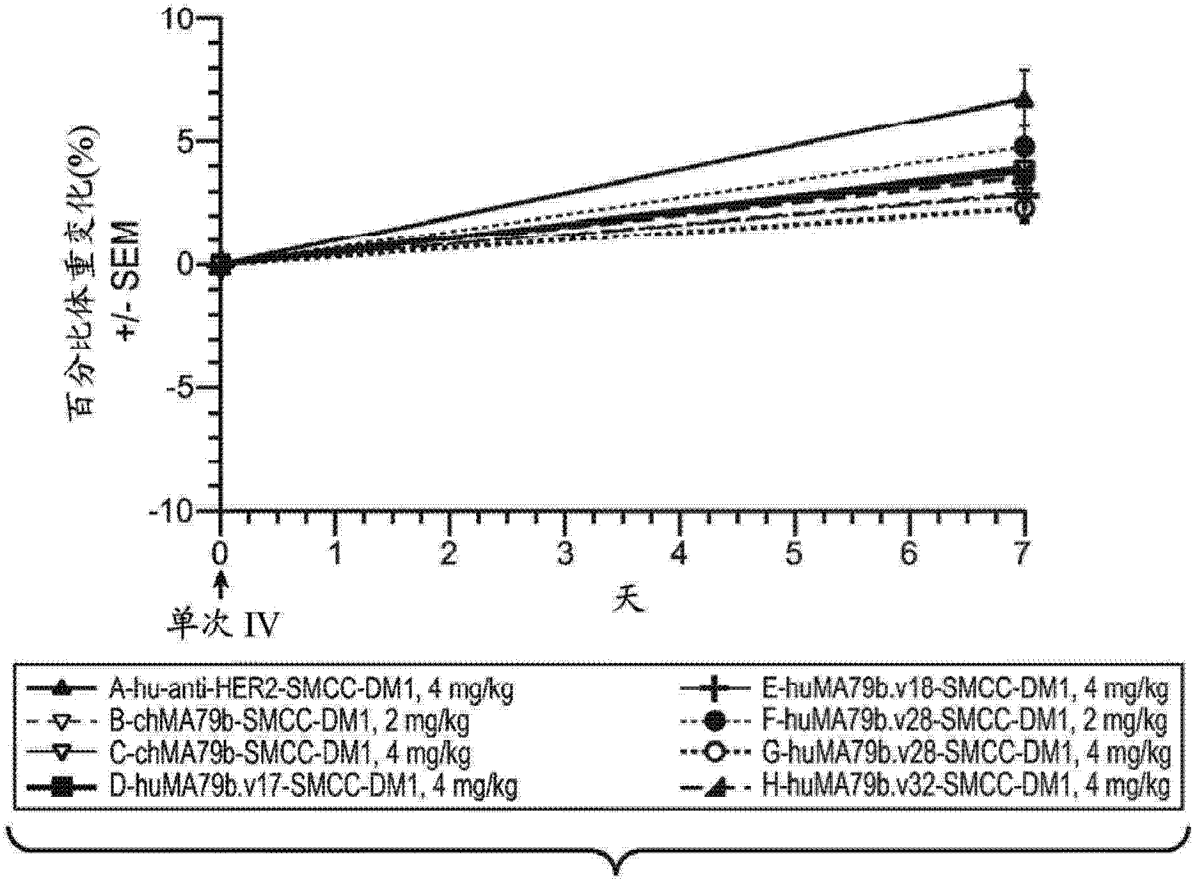

百分比体重变化(%)
+/- SEM
10
5
0
-5
-10
0
1
2
3
4
5
6
7
天
单次 IV
A-hu-anti-HER2-SMCC-DM1, 4 mg/kg
B-chMA79b-SMCC-DM1, 2 mg/kg
C-chMA79b-SMCC-DM1, 4 mg/kg
D-huMA79b.v17-SMCC-DM1, 4 mg/kg
E-huMA79b.v18-SMCC-DM1, 4 mg/kg
F-huMA79b.v28-SMCC-DM1, 2 mg/kg
G-huMA79b.v28-SMCC-DM1, 4 mg/kg
H-huMA79b.v32-SMCC-DM1, 4 mg/kg

图 21B

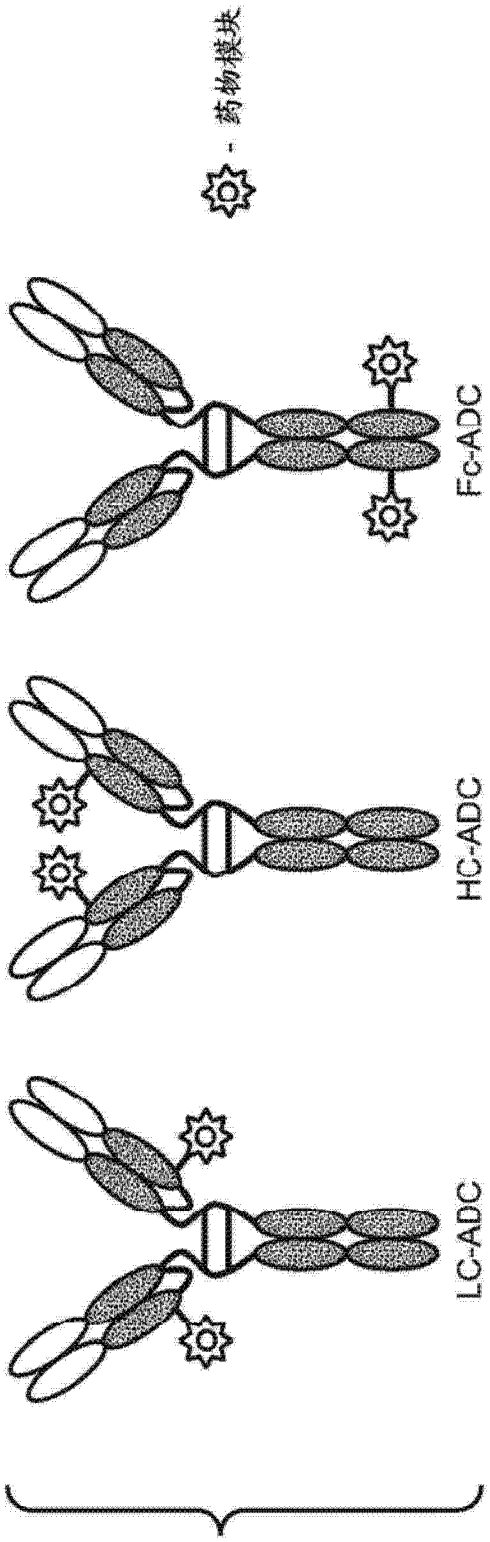


图 22

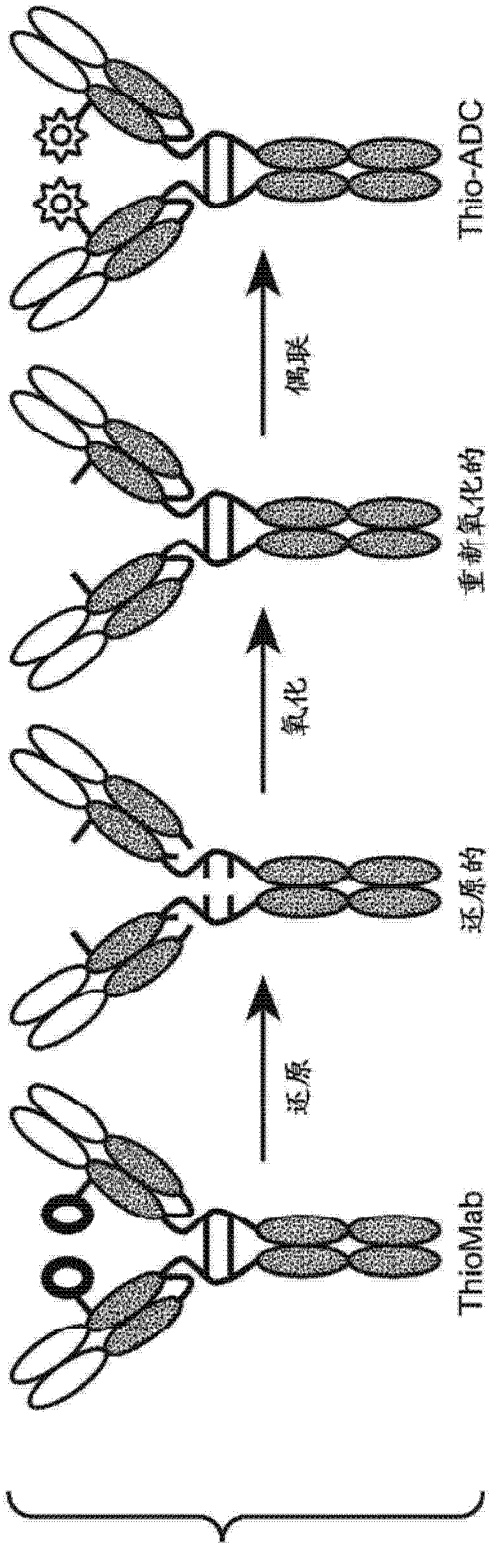


图 23

抗 CD79b A118C huMA79b.v17 半胱氨酸改造重链 ThioMAb

A. 轻链序列

Thio-huMA79b.v17-HC-A118C (LC)

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVDYDGDSFLNWYQQKPGKAPKLLIYAASNLESGVPSRFSGS
GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC
LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS
PVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 229)

B. 重链序列

Thio-huMA79b.v17-HC-A118C (HC)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSSYWIEWVRQAPGKGLEWIGEILPGGGDTNYNEIFKGRATFSAD
TSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRVPVYFDYWGQGTLVTVSSCSTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS
CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL
TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
(SEQ ID NO: 228)

图 24

抗 CD79b A118C huMA79b.v18 半胱氨酸改造重链 ThioMAb

A. 轻链序列

Thio-huMA79b.v18-HC-A118C (LC)

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVDYDGDSFLNWYQQKPGKAPKLLIYAASNLESGVPSRFSGS
GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC
LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS
PVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 231)

B. 重链序列

Thio-huMA79b.v18-HC-A118C (HC)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSSYWIEWVRQAPGKGLEWIGEILPGGGDTNYNEIFKGRAT
FSADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRVPIRLDYWGQGTLVTVSSCSTKGPSVFPLAPSSKSTSGG
TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS
NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 230)

图 25

抗 CD79b A118C huMA79b.v28 半胱氨酸改造重链 ThioMAb

A. 轻链序列

Thio-huMA79b.v28-HC-A118C (LC)

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVDYEGDSFLNWYQQKPGKAPKLLIYAASNLESGVPSRFSGS
GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC
LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS
PVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 233)

B. 重链序列

Thio-huMA79b.v28-HC-A118C (HC)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSSYWIEWVRQAPGKGLEWIGEILPGGGDTNYNEIFKGRAT
FSADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRVPIRLDYWGQGTLVTVSSCSTKGPSVFPLAPSSKSTSGG
TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS
NTKVDKKVEPKSCDKTHT*CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN*
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 232)

图 26

抗 CD79b V205C chMA79b 半胱氨酸改造轻链 ThioMAb

A. 轻链序列

Thio chMA79b-LC-V205C (LC)

DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSFLNWYQQKPGQPPKLFIYAASNLESGIPARFSGS
GSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQQSNEDPLTFGAGTELELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC
LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS
PCTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 235)

B. 重链序列

Thio chMA79b-LC-V205C (HC)

EVQLQQSGAELMKPGASVKISCKATGYTFSSYWIEWVKQRPGHGLEWIGEILPGGGDTNYNEIFKGKAT
FTADTSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYYCTRRVPVYFDYWGQGTSVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG
TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS
NTKVDKKVEPKSCDKTHT*CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN*
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 234)

图 27

抗 CD79b A118C chMA79b 半胱氨酸改造重链 ThioMAb

A. 轻链序列

Thio chMA79b-HC-A118C (LC)

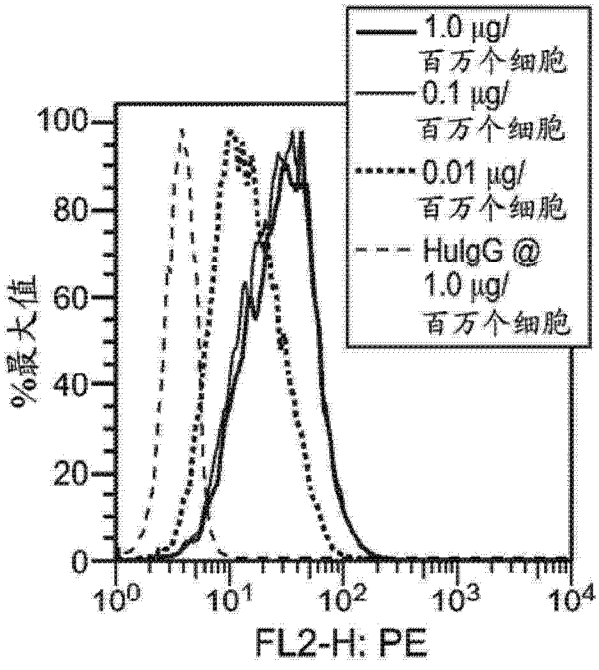
DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSFLNWYQQKPGQPPKLFIYAASNLESGIPARFSGS
GSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQQSNEDPLTFGAGTELELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC
LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS
PVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 237)

B. 重链序列

Thio chMA79b-HC-A118C (HC)

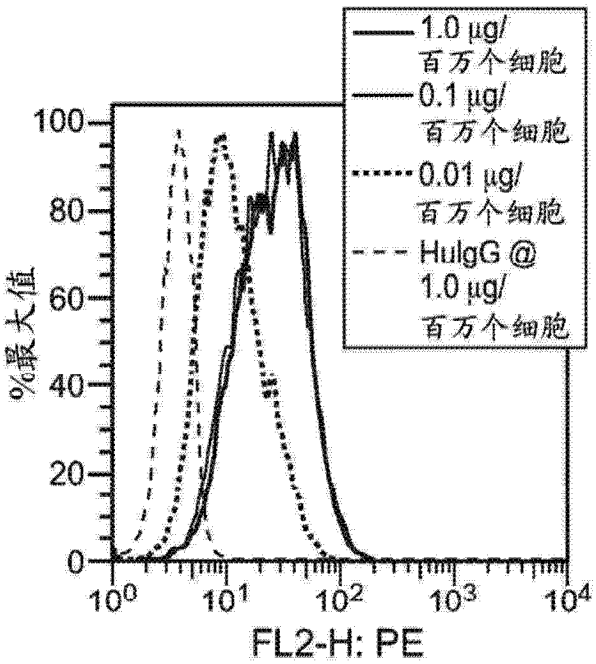
EVQLQQSGAELMKPGASVKISCKATGYTFSSYWIEWVKQRPGHGLEWIGEILPGGGDTNYNEIFKGKAT
FTADTSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYYCTRRVPVYFDYWGQGTSVTVSSCSTKGPSVFPLAPSSKSTSGG
TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS
NTKVDKKVEPKSCDKTHT*CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN*
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 236)

图 28



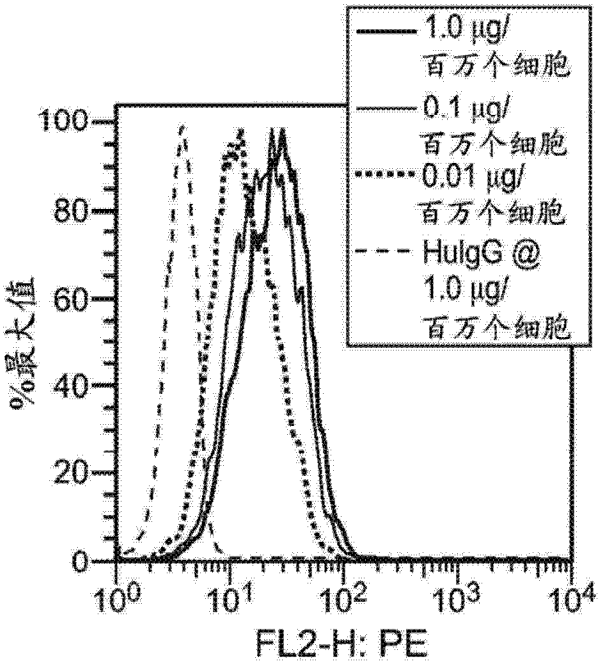
Thio chMA79b-LC(V205C)-MC-MMAF 对 BJAB-lucs 的结合

图 29A



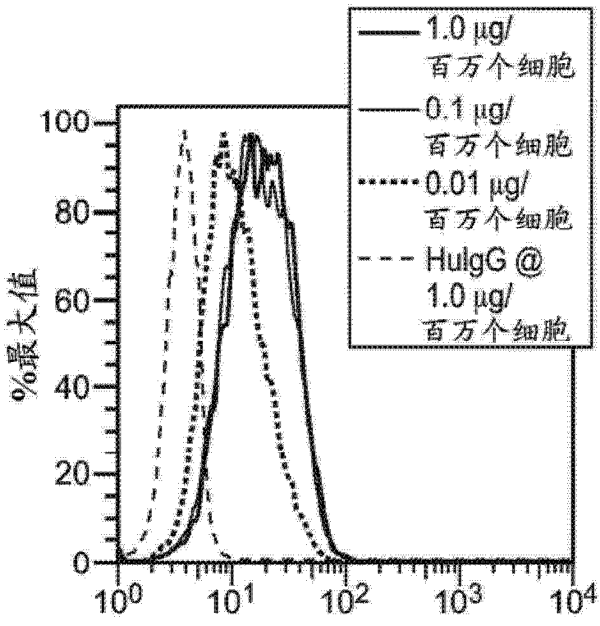
Thio chMA79b-HC(A118C)-MC-MMAF 对 BJAB-lucs 的结合

图 29B



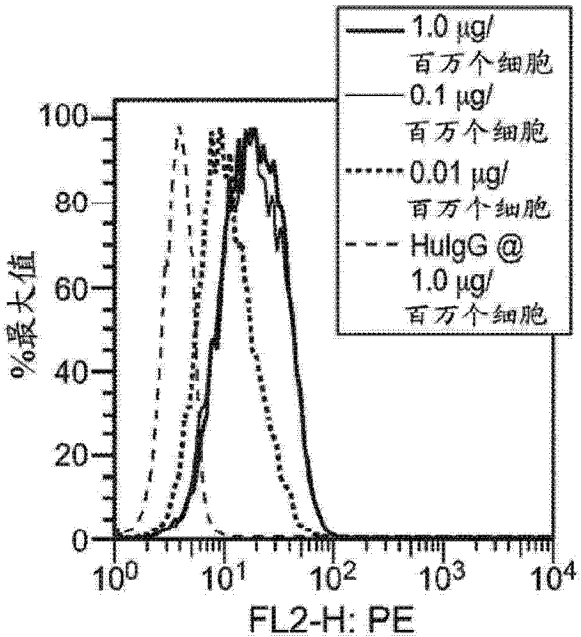
裸的 Thio MA79b.v18-HC (A118C)对 BJAB-lucs 的结合

图 30A



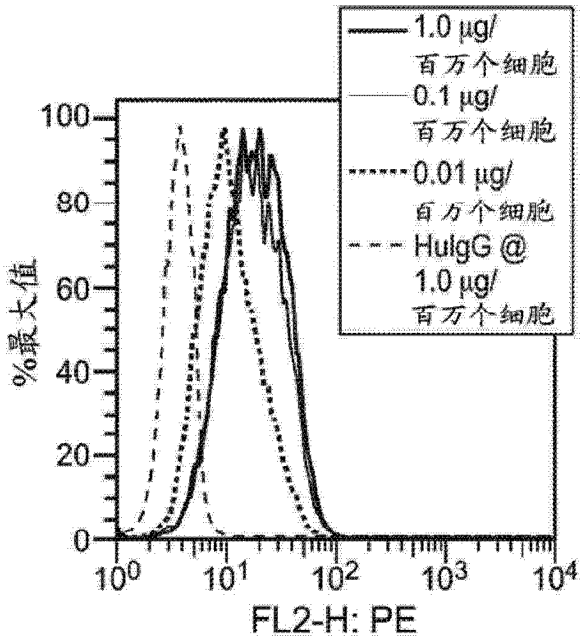
Thio MA79b.v18-HC(A118C)-MC-MMAF 对 BJAB-lucs 的结合

图 30B



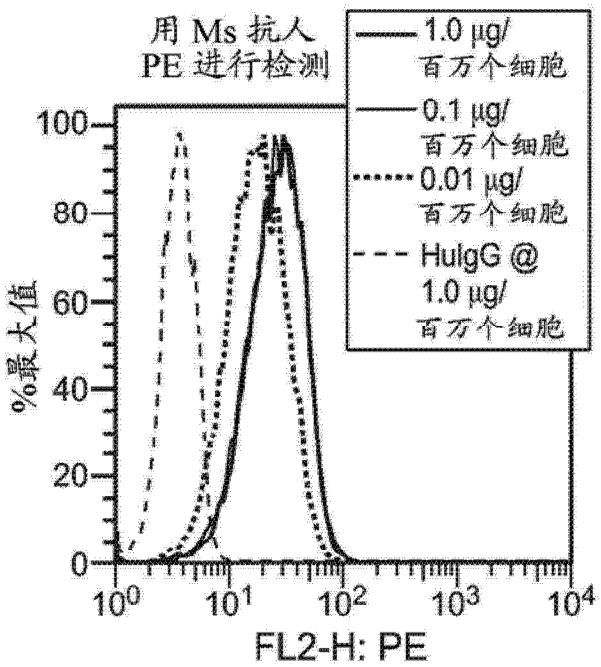
Thio MA79b.v18-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE 对 BJAB-lucs 的结合

图 30C



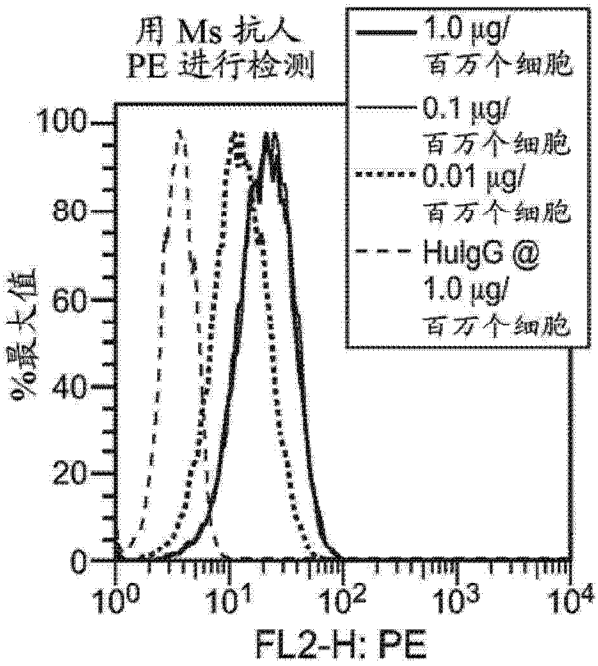
Thio MA79b.v18-HC(A118C)-BMPEO-DM1 对 BJAB-lucs 的结合

图 30D



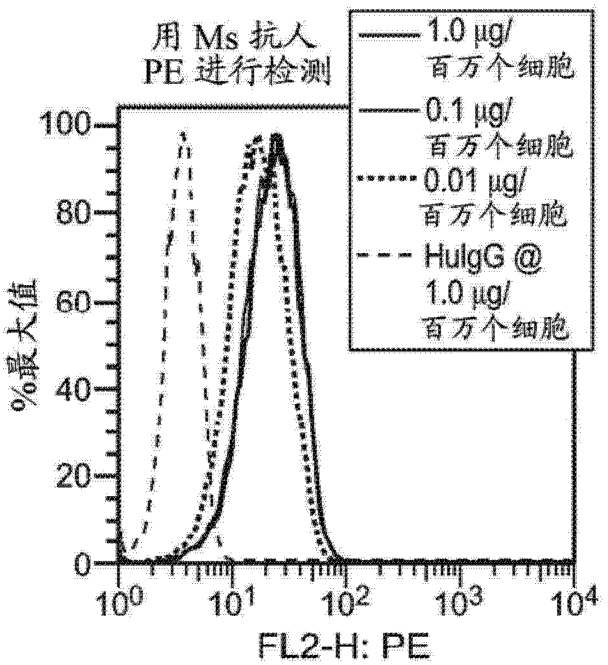
裸的 Thio MA79b.v28-HC
(A118C)对 BJAB-lucs 的结合

图 31A



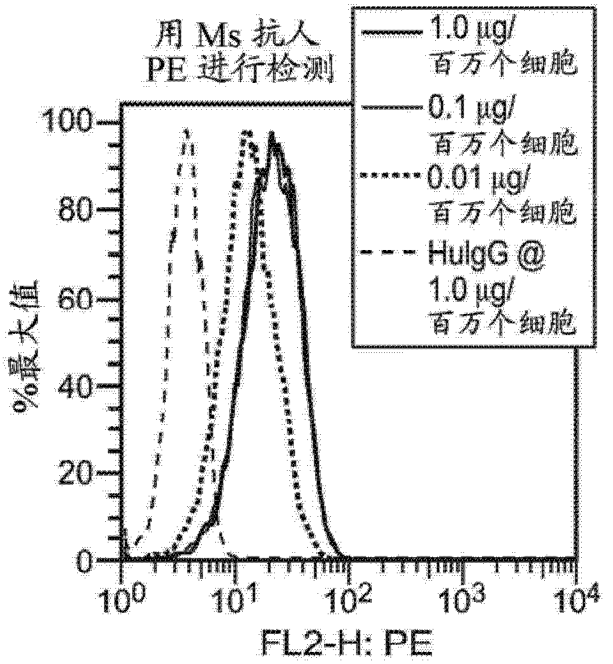
Thio MA79b.v28-HC(A118C)-
MCvcPAB-MMAE 对 BJAB-lucs 的结合

图 31B



Thio MA79b.v28-HC(A118C)-
BMPEO-DM1 对 BJAB-lucs 的结合

图 31C



Thio MA79b.v28-HC(A118C)-
MC-MMAF 对 BJAB-lucs 的结合

图 31D

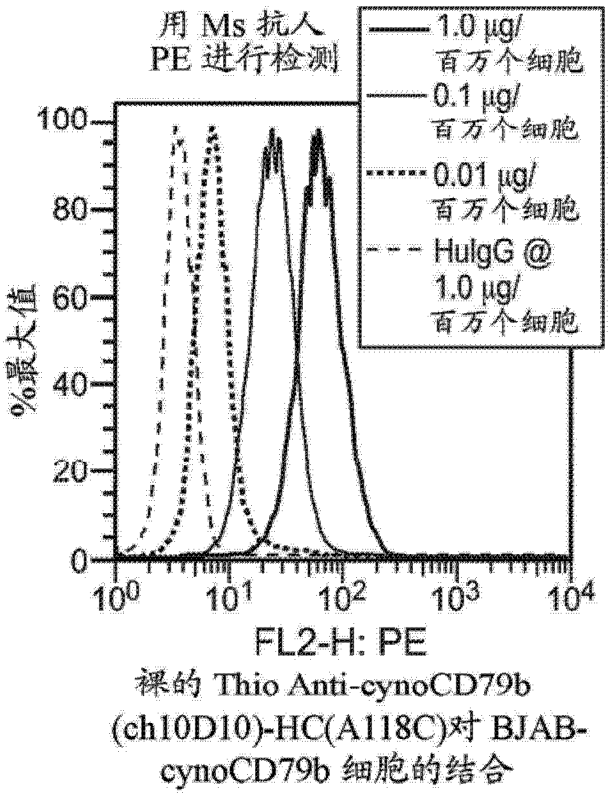
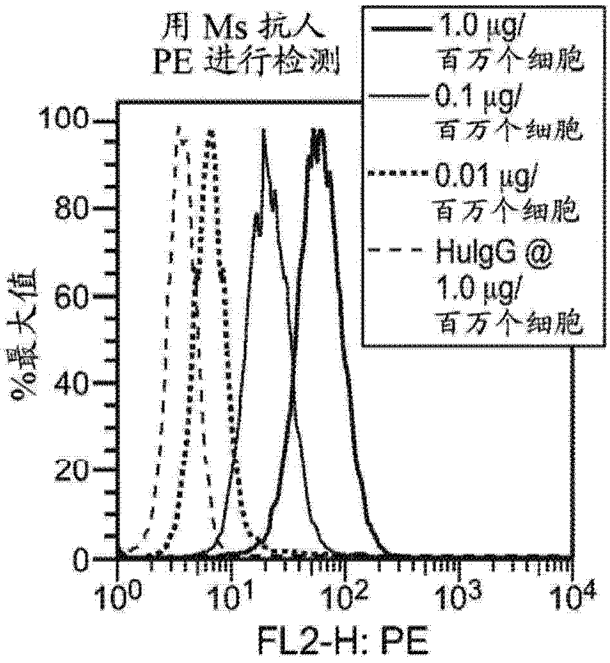
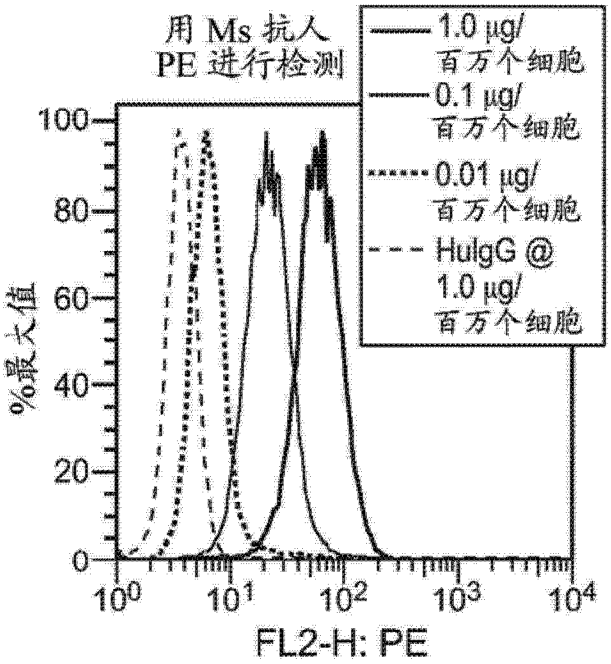

用 Ms 抗人
PE 进行检测
1.0 μg/
百万个细胞
0.1 μg/
百万个细胞
0.01 μg/
百万个细胞
HulgG @
1.0 μg/
百万个细胞
%最大值
100
80
60
40
20
0
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
FL2-H: PE
裸的 Thio Anti-cynoCD79b
(ch10D10)-HC(A118C)对 BJAB-
cynoCD79b 细胞的结合

图 32A



Thio Anti-cynoCD79b (ch10D10)-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE 对 BJAB-cynoCD79b 细胞的结合

图 32B



Thio Anti-cynoCD79b (ch10D10)-HC(A118C)-BMPEO-DM1 对 BJAB-cynoCD79b 细胞的结合

图 32C

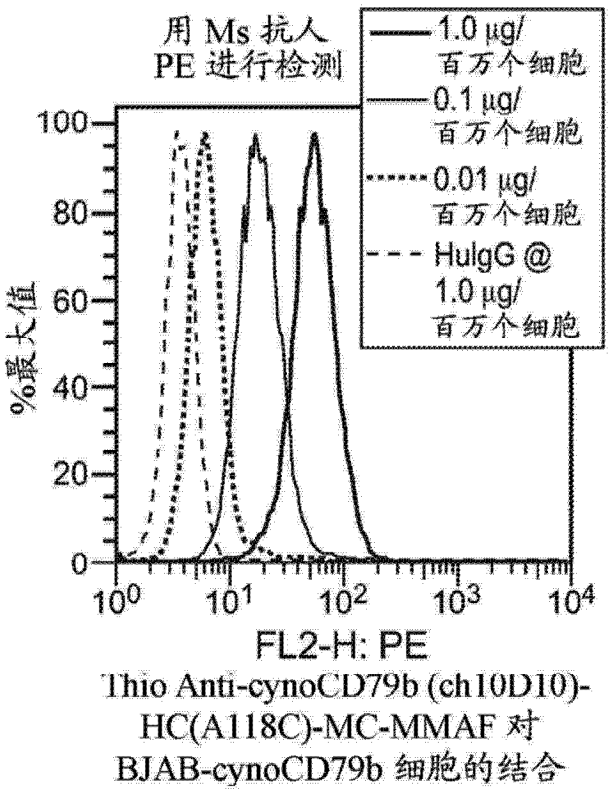

用 Ms 抗人
PE 进行检测
1.0 μg/
百万个细胞
0.1 μg/
百万个细胞
0.01 μg/
百万个细胞
HulgG @
1.0 μg/
百万个细胞
%最大值
100
80
60
40
20
0
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
FL2-H: PE
Thio Anti-cynoCD79b (ch10D10)-
HC(A118C)-MC-MMAF 对
BJAB-cynoCD79b 细胞的结合

图 32D

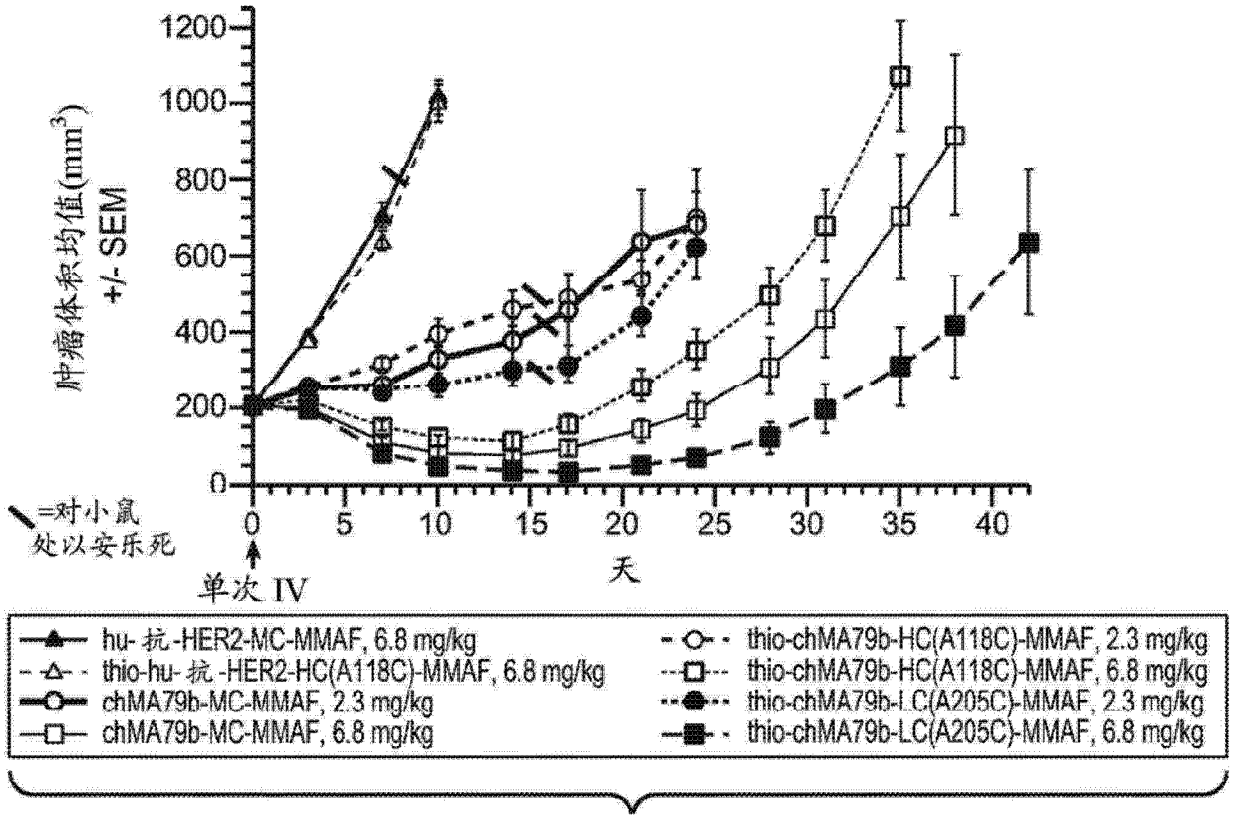

肿瘤体积均值(mm3)
+/- SEM
1200
1000
800
600
400
200
0
0
5
10
15
20
25
30
35
40
天
=对小鼠
处以安乐死
单次 IV
hu-抗-HER2-MC-MMAF, 6.8 mg/kg
thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MMAF, 6.8 mg/kg
chMA79b-MC-MMAF, 2.3 mg/kg
chMA79b-MC-MMAF, 6.8 mg/kg
thio-chMA79b-HC(A118C)-MMAF, 2.3 mg/kg
thio-chMA79b-HC(A118C)-MMAF, 6.8 mg/kg
thio-chMA79b-LC(A205C)-MMAF, 2.3 mg/kg
thio-chMA79b-LC(A205C)-MMAF, 6.8 mg/kg

图 33A

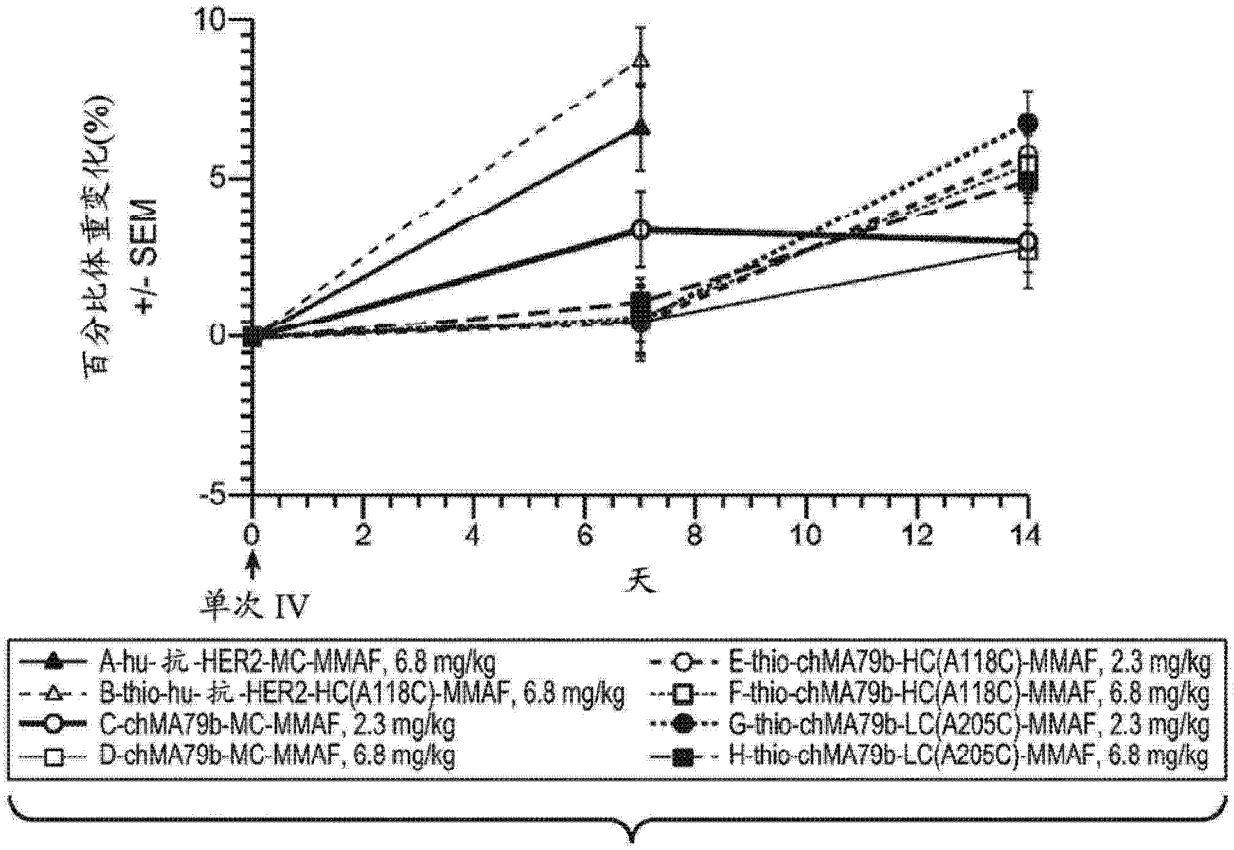

百分比体重变化(%)
+/- SEM
10
5
0
-5
0
2
4
6
8
10
12
14
天
单次 IV
A-hu-抗-HER2-MC-MMAF, 6.8 mg/kg
B-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MMAF, 6.8 mg/kg
C-chMA79b-MC-MMAF, 2.3 mg/kg
D-chMA79b-MC-MMAF, 6.8 mg/kg
E-thio-chMA79b-HC(A118C)-MMAF, 2.3 mg/kg
F-thio-chMA79b-HC(A118C)-MMAF, 6.8 mg/kg
G-thio-chMA79b-LC(A205C)-MMAF, 2.3 mg/kg
H-thio-chMA79b-LC(A205C)-MMAF, 6.8 mg/kg

图 33B

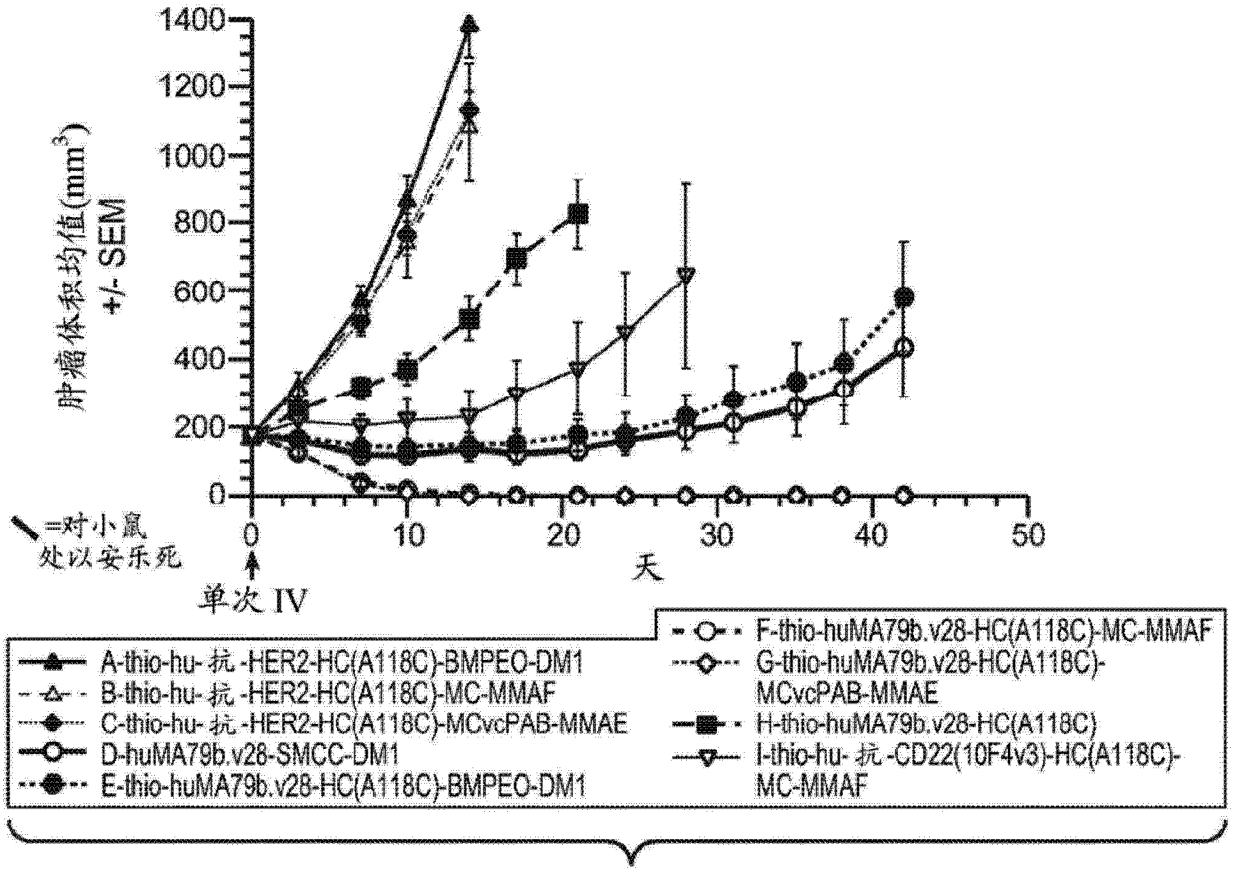

肿瘤体积均值(mm3)
+/- SEM
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
0
10
20
30
40
50
天
=对小鼠
处以安乐死
单次 IV
A-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1
B-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF
C-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE
D-huMA79b.v28-SMCC-DM1
E-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1
F-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF
G-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE
H-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)
I-thio-hu-抗-CD22(10F4v3)-HC(A118C)-MC-MMAF

图 34A

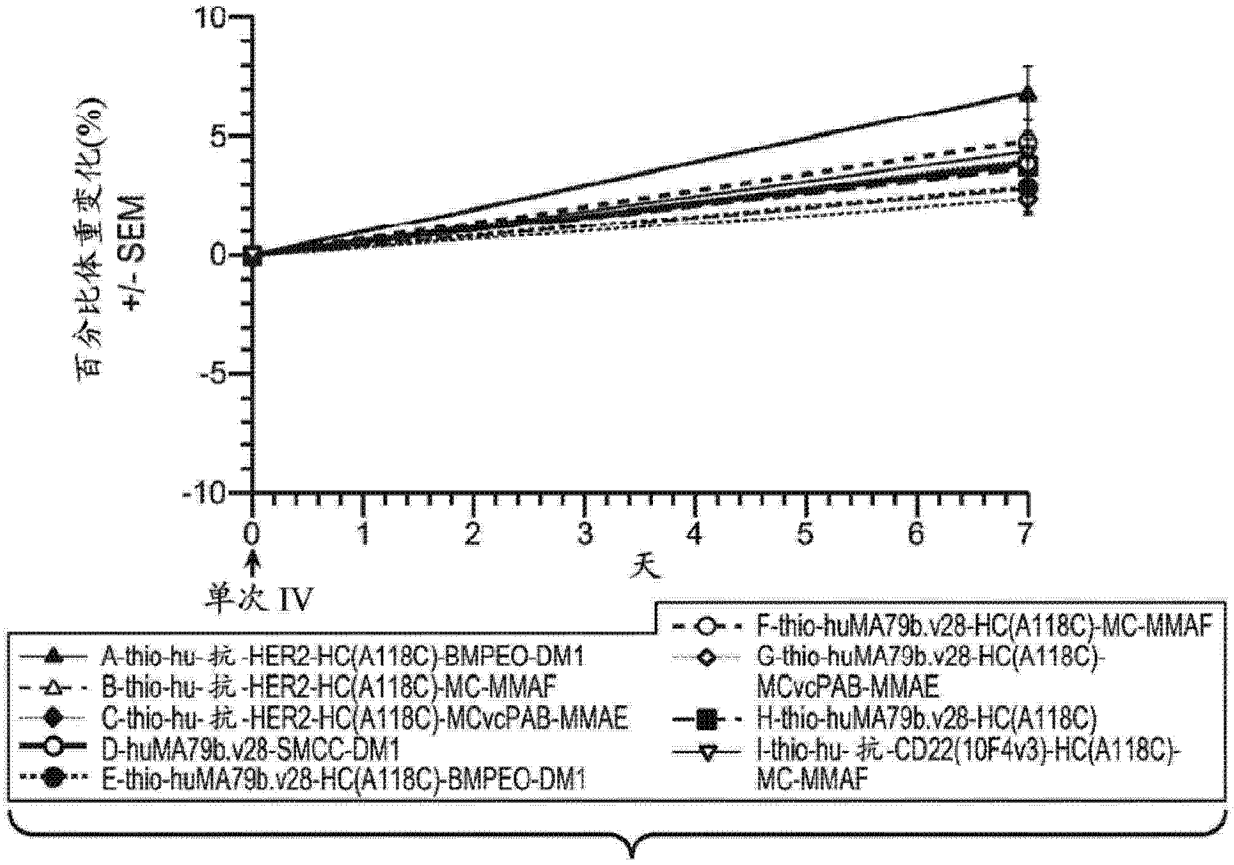

百分比体重变化(%)
+/- SEM
10
5
0
-5
-10
0
1
2
3
4
5
6
7
天
单次 IV
A-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1
B-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF
C-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE
D-huMA79b.v28-SMCC-DM1
E-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1
F-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF
G-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE
H-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)
I-thio-hu-抗-CD22(10F4v3)-HC(A118C)-MC-MMAF

图 34B

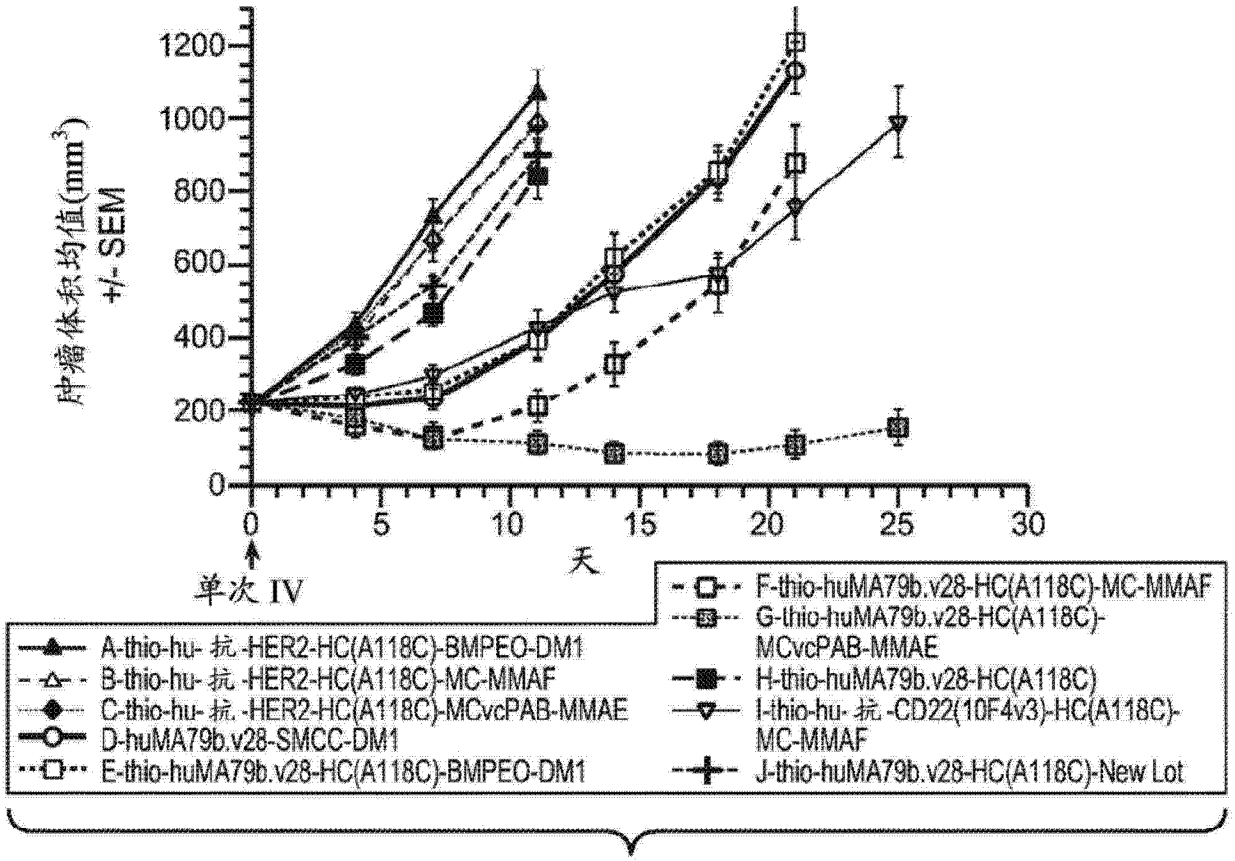

肿瘤体积均值(mm3)
+/- SEM
1200
1000
800
600
400
200
0
0
5
10
15
20
25
30
天
单次 IV
A-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1
B-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF
C-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE
D-huMA79b.v28-SMCC-DM1
E-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1
F-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF
G-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE
H-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)
I-thio-hu-抗-CD22(10F4v3)-HC(A118C)-MC-MMAF
J-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-New Lot

图 35A

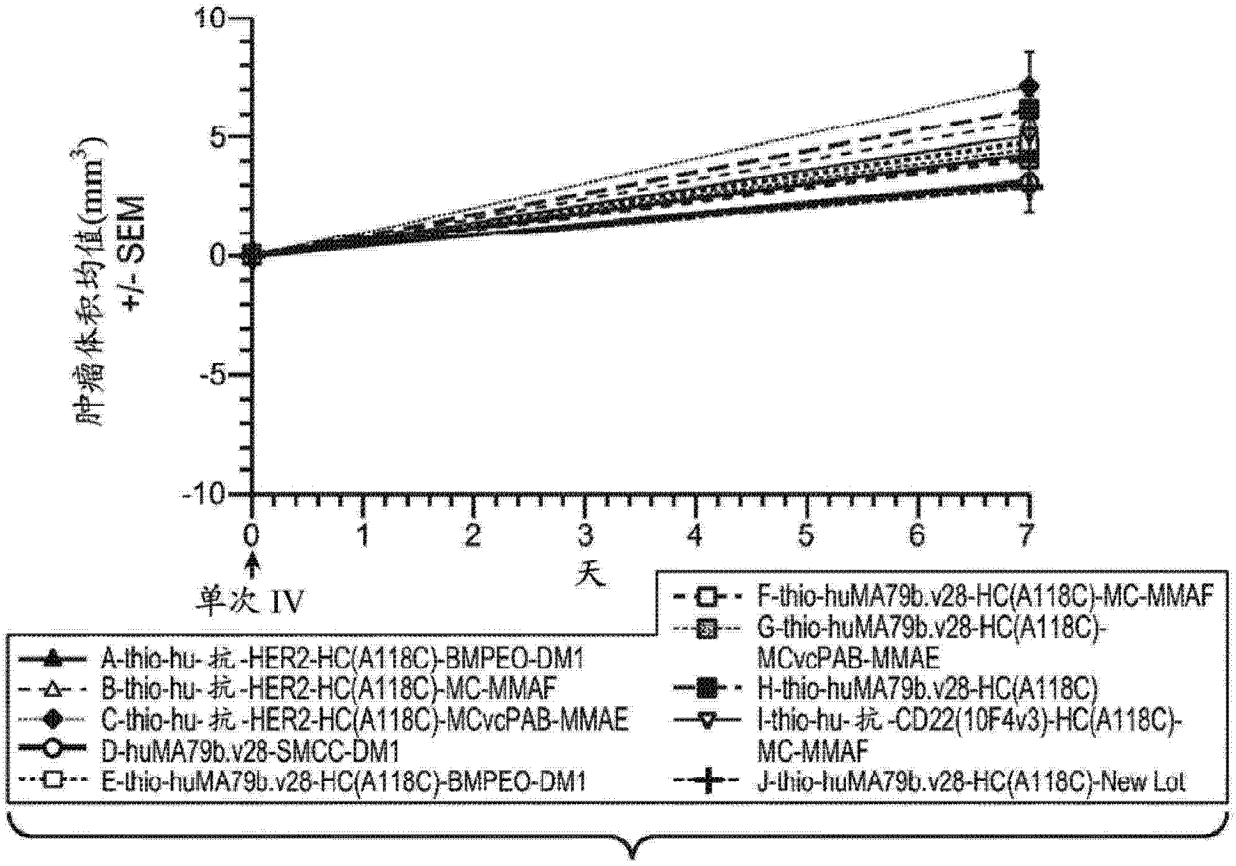

10
5
0
-5
-10
肿瘤体积均值(mm3)
+/- SEM
0
1
2
3
4
5
6
7
天
单次 IV
A-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1
B-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF
C-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE
D-huMA79b.v28-SMCC-DM1
E-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1
F-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF
G-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE
H-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)
I-thio-hu-抗-CD22(10F4v3)-HC(A118C)-MC-MMAF
J-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-New Lot

图 35B

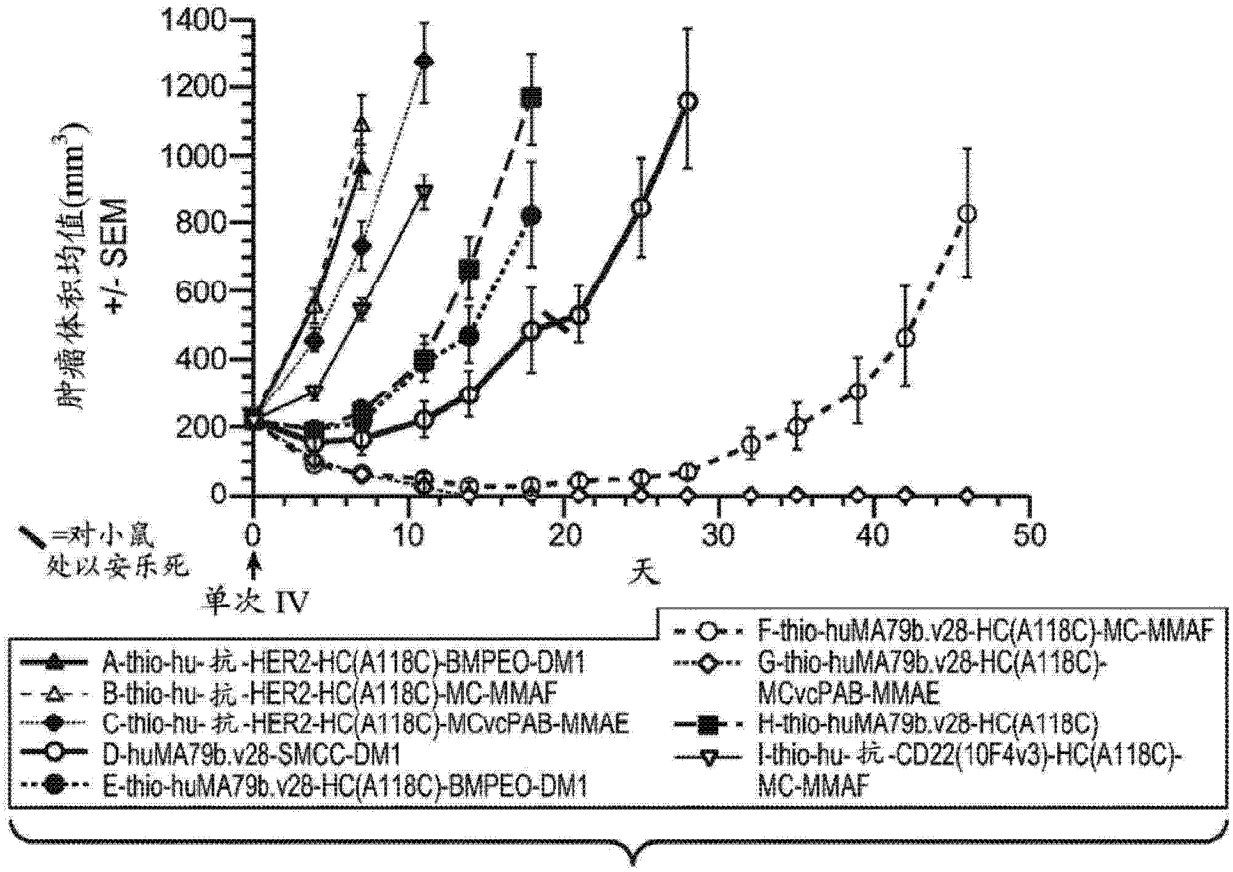

肿瘤体积均值(mm3)
+/- SEM
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
0
10
20
30
40
50
天
=对小鼠处以安乐死
单次 IV
A-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1
B-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF
C-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE
D-huMA79b.v28-SMCC-DM1
E-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1
F-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF
G-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE
H-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)
I-thio-hu-抗-CD22(10F4v3)-HC(A118C)-MC-MMAF

图 36

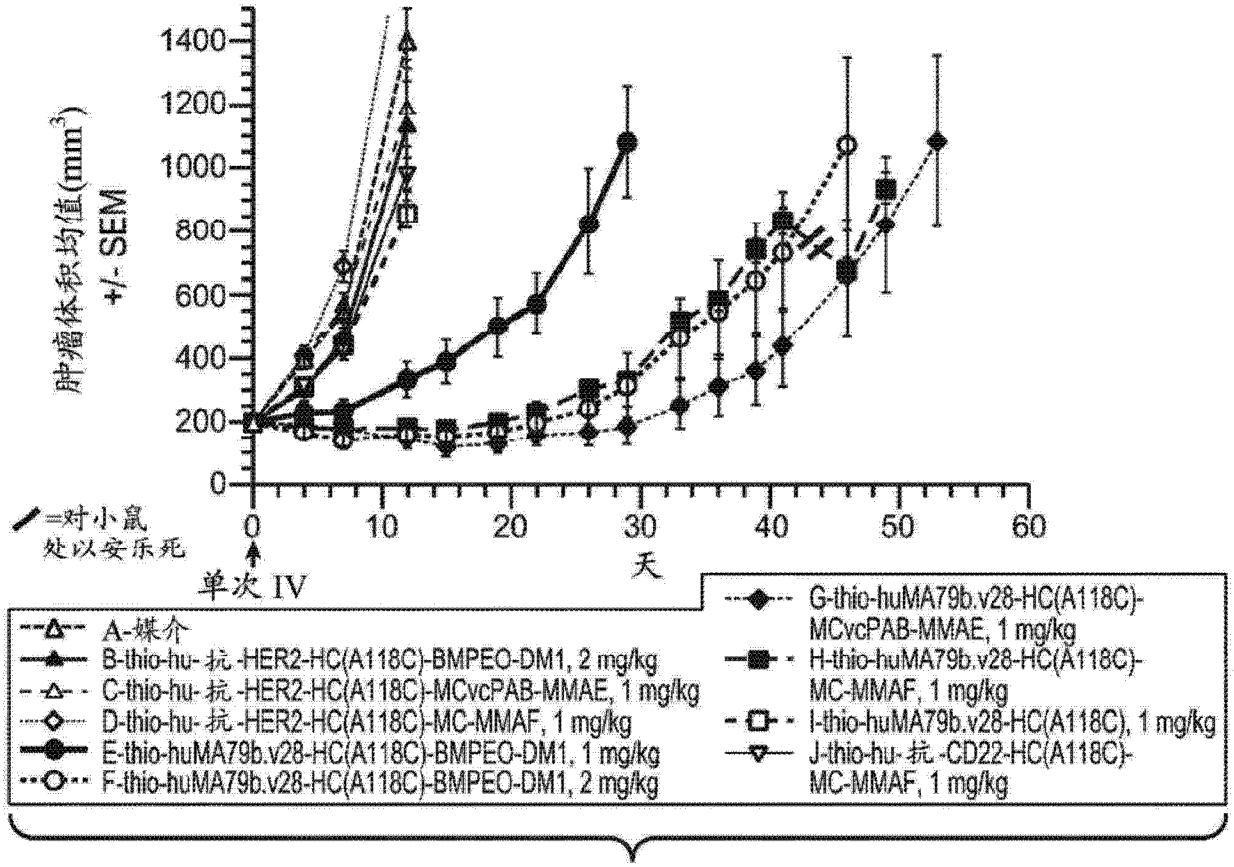

肿瘤体积均值(mm3)
+/- SEM
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
0
10
20
30
40
50
60
天
=对小鼠
处以安乐死
单次 IV
A-媒介
B-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 2 mg/kg
C-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE, 1 mg/kg
D-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF, 1 mg/kg
E-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 1 mg/kg
F-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 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

图 37

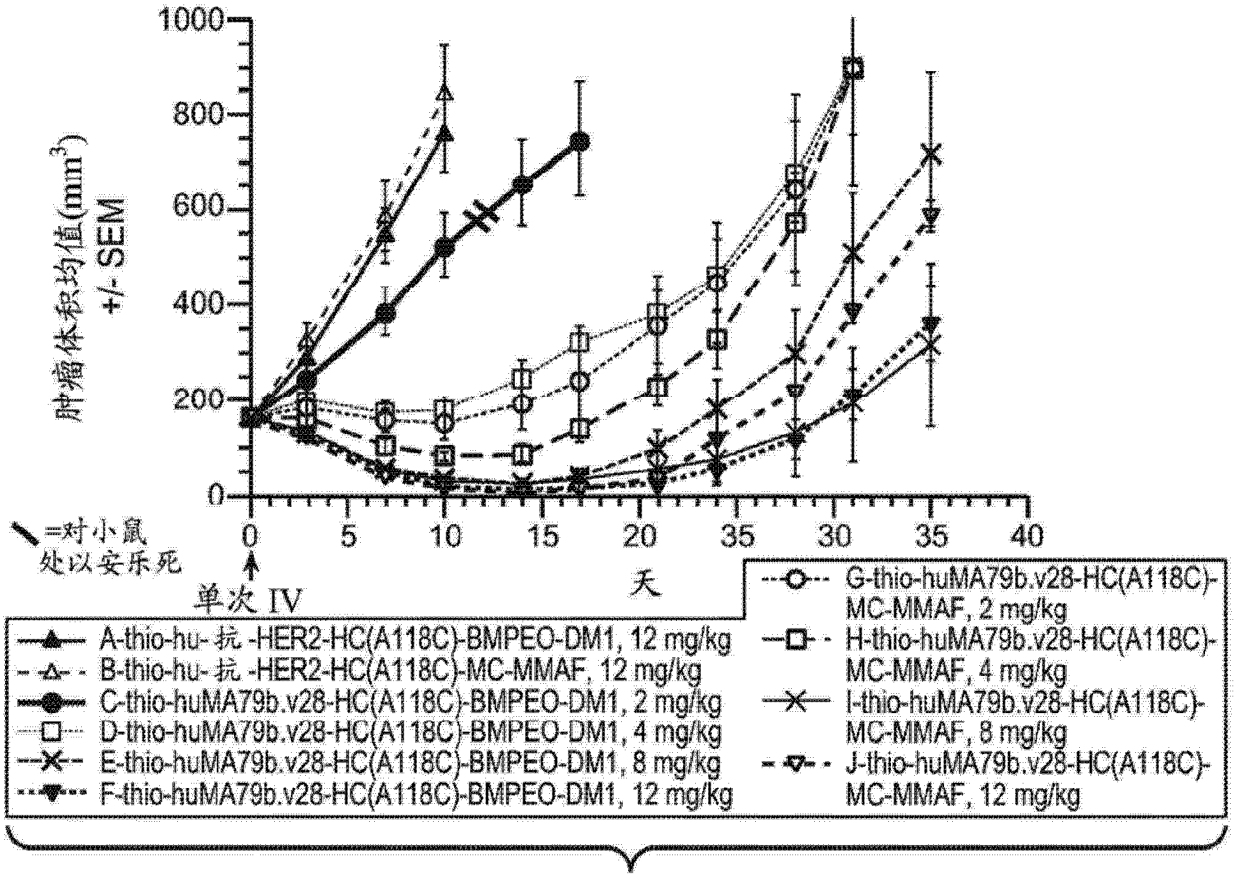

肿瘤体积均值(mm3)
+/- SEM
1000
800
600
400
200
0
0
5
10
15
20
35
30
35
40
天
=对小鼠
处以安乐死
单次 IV
A-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 12 mg/kg
B-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF, 12 mg/kg
C-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 2 mg/kg
D-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 4 mg/kg
E-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 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

图 38A

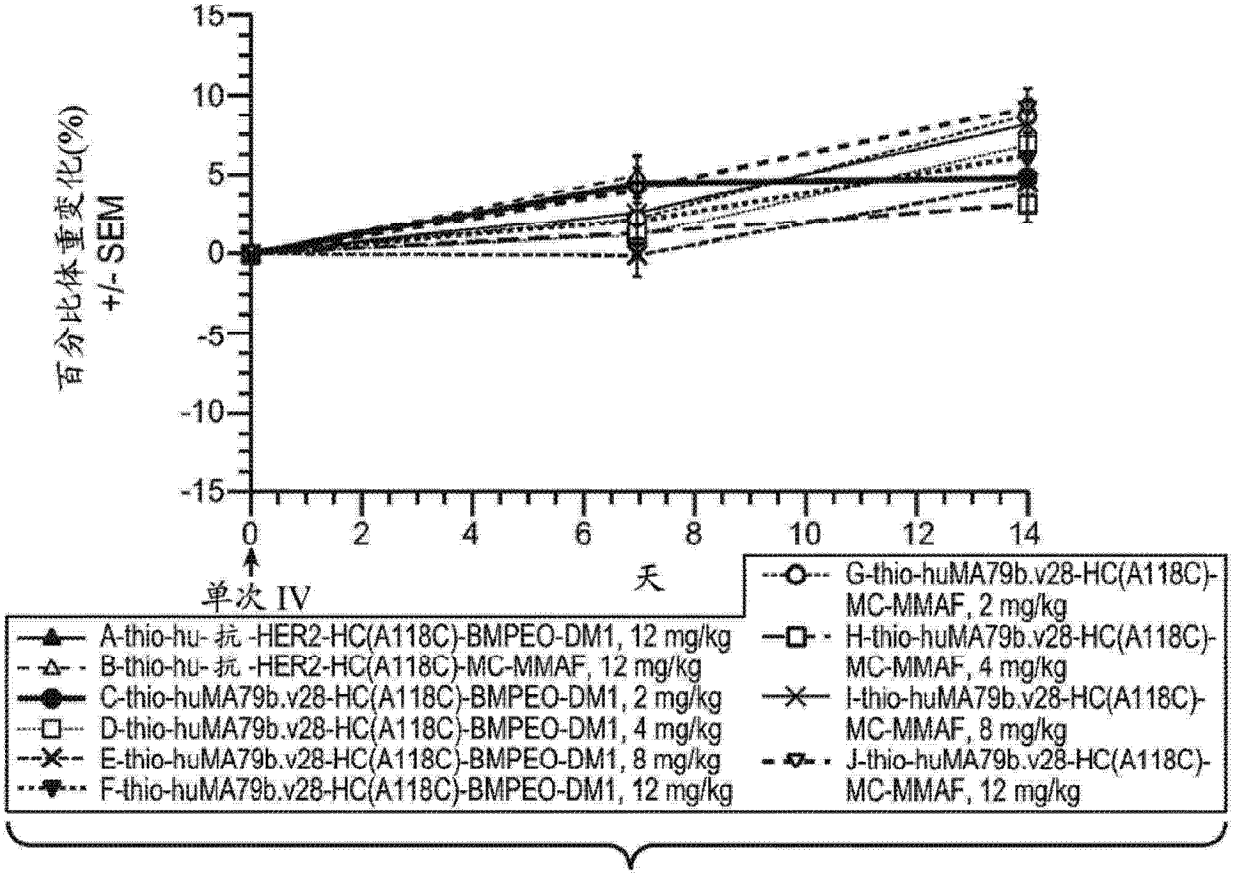

百分比体重变化(%)
+/- SEM
15
10
5
0
-5
-10
-15
0
2
4
6
8
10
12
14
单次 IV
天
A-thio-hu- 抗 -HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 12 mg/kg
B-thio-hu- 抗 -HER2-HC(A118C)-MC-MMAF, 12 mg/kg
C-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 2 mg/kg
D-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 4 mg/kg
E-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 8 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

图 38B

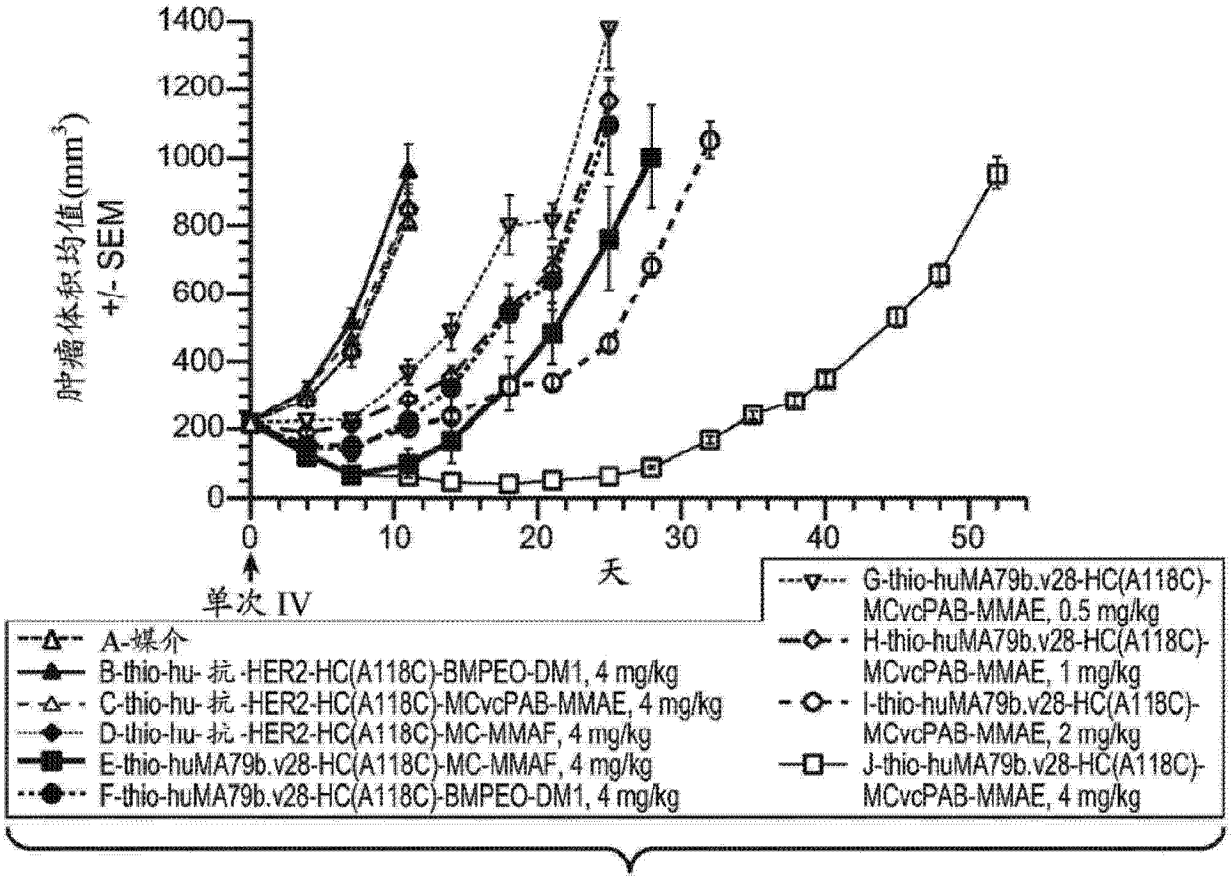

肿瘤体积均值(mm3)
+/- SEM
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
0
10
20
30
40
50
天
单次 IV
A-媒介
B-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 4 mg/kg
C-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE, 4 mg/kg
D-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF, 4 mg/kg
E-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MC-MMAF, 4 mg/kg
F-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 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

图 39

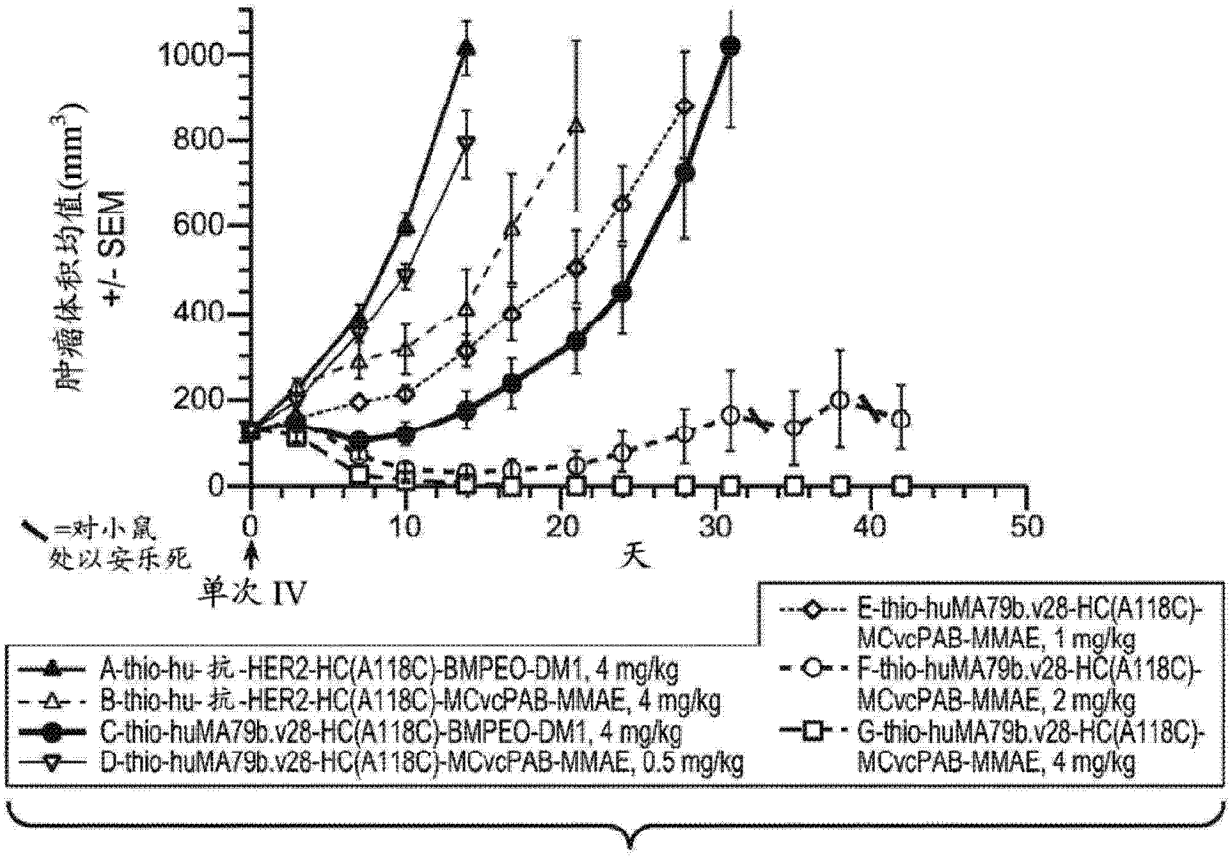

肿瘤体积均值(mm3)
+/- SEM
1000
800
600
400
200
0
0
10
20
30
40
50
天
=对小鼠
处以安乐死
单次 IV
A-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 4 mg/kg
B-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE, 4 mg/kg
C-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 4 mg/kg
D-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE, 0.5 mg/kg
E-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE, 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

图 40

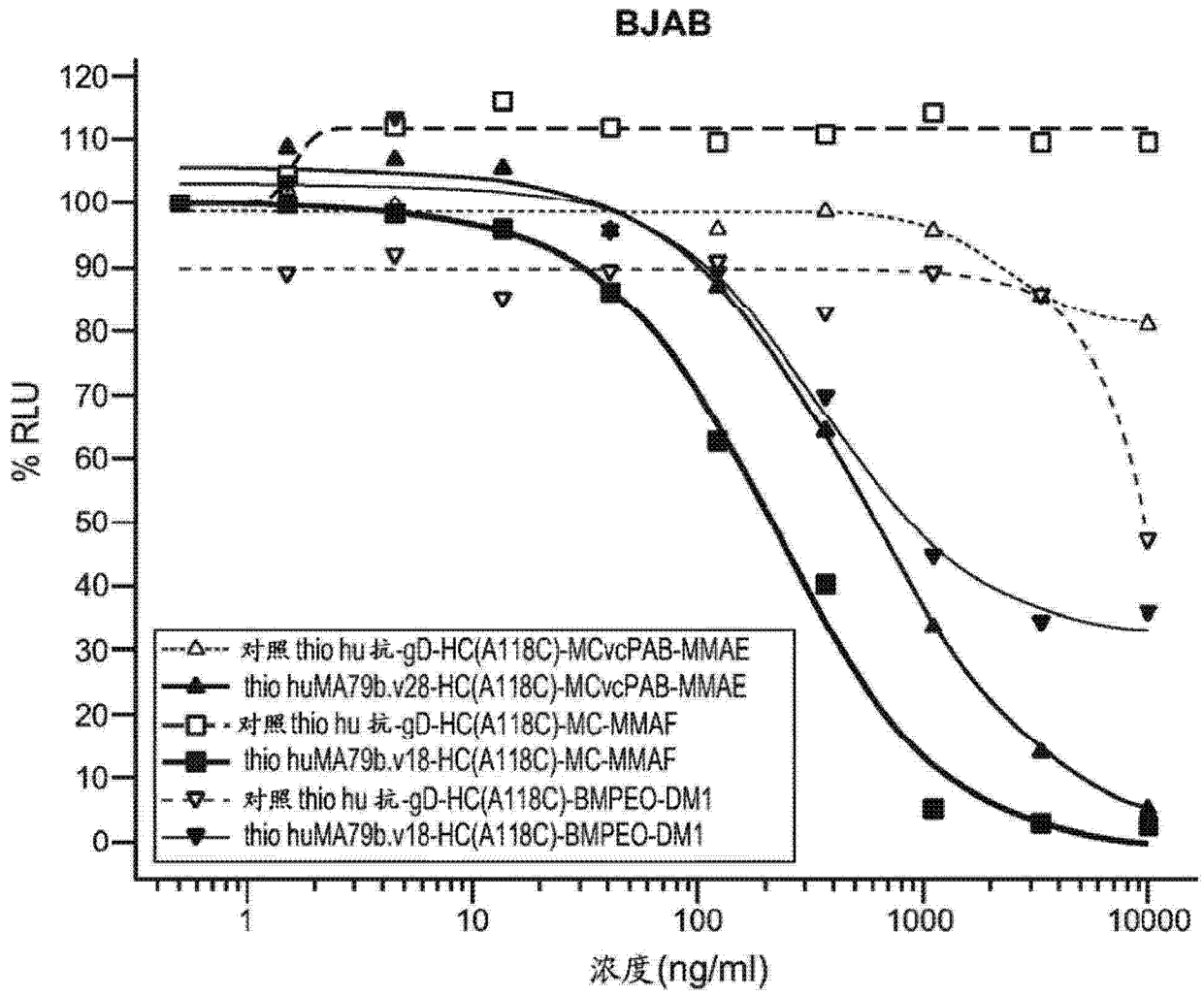

BJAB
% RLU
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
1
10
100
1000
10000
浓度(ng/ml)
对照 thio hu 抗-gD-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE
thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE
对照 thio hu 抗-gD-HC(A118C)-MC-MMAF
thio huMA79b.v18-HC(A118C)-MC-MMAF
对照 thio hu 抗-gD-HC(A118C)-BMPEO-DM1
thio huMA79b.v18-HC(A118C)-BMPEO-DM1

图 41A

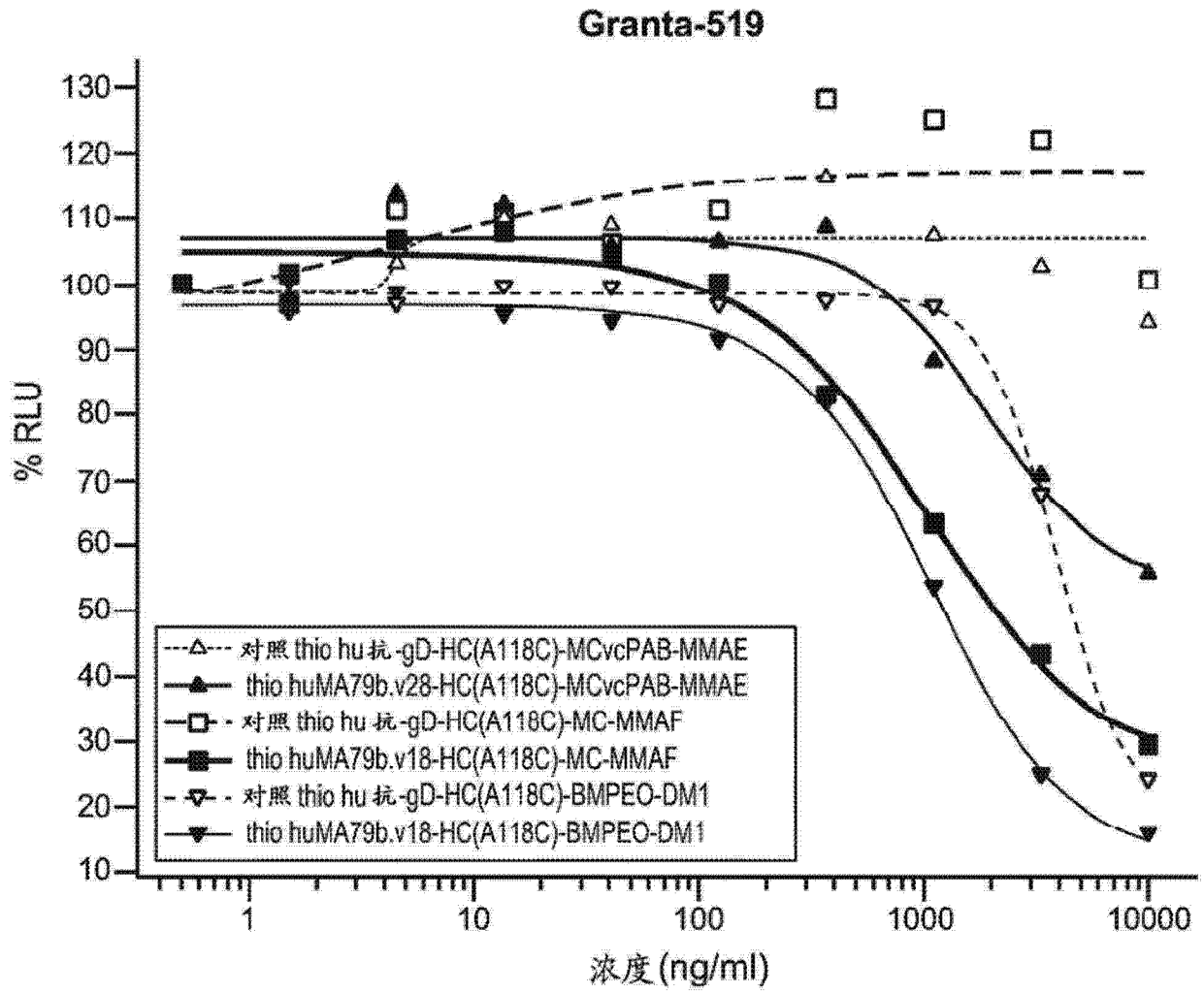

Granta-519
% RLU
130
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
1
10
100
1000
10000
浓度(ng/ml)
对照 thio hu抗-gD-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE
thio huMA79b.v28-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE
对照 thio hu抗-gD-HC(A118C)-MC-MMAF
thio huMA79b.v18-HC(A118C)-MC-MMAF
对照 thio hu抗-gD-HC(A118C)-BMPEO-DM1
thio huMA79b.v18-HC(A118C)-BMPEO-DM1

图 41B

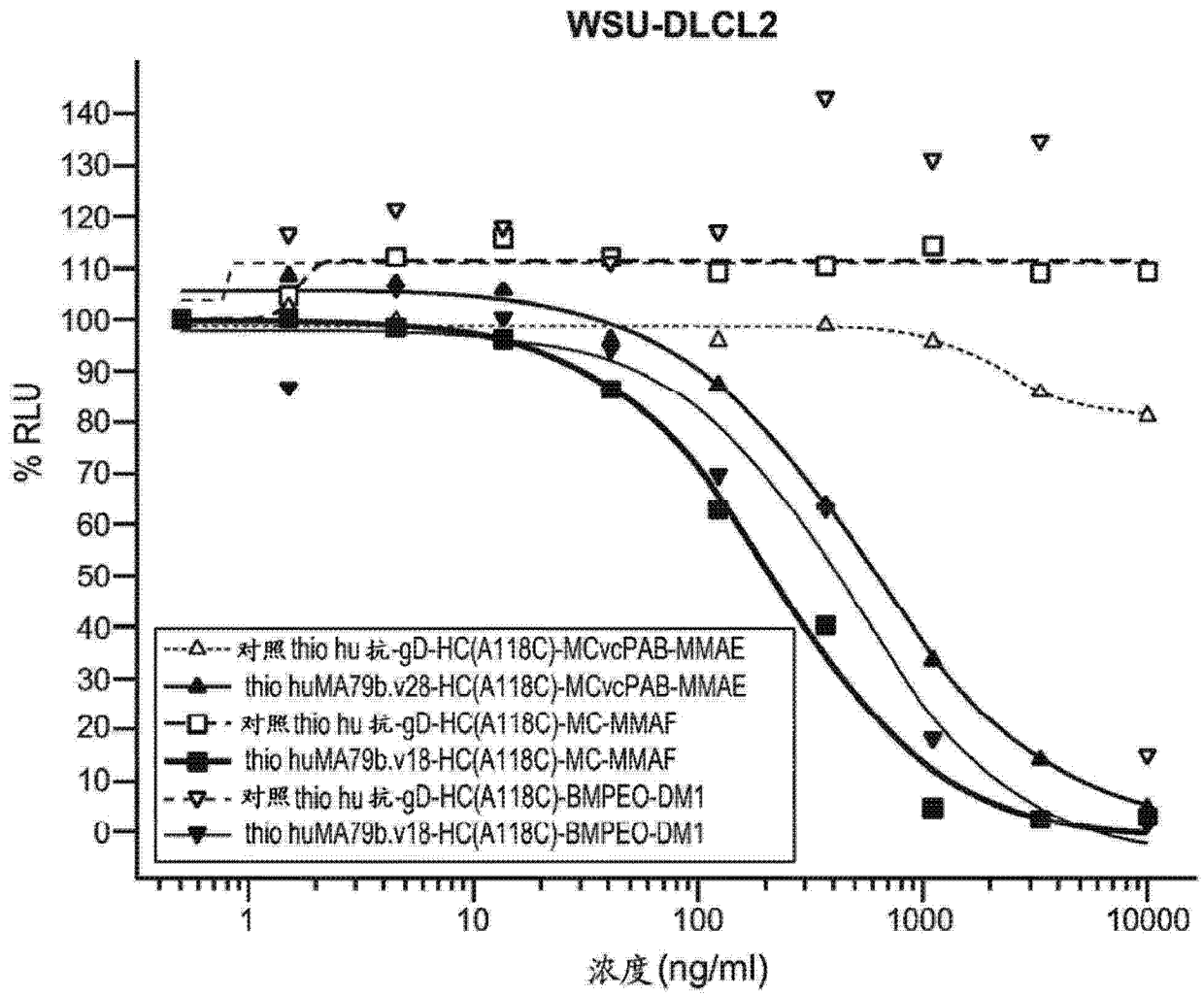


图 41C

<p1.cynoCD79b

TCATGGTGATGGTGATGATGACCGGTACGCGTAGAATCGAGACCGAGGAGAGGGTTAGGGATAGG
CTTACCTTCGAACCGCGGGCCCTCTAGACTCGAGCGGCCGCCACTGTGCTGGATATCTGCAGAAT
TGCCCTTGGGGACAGAGCAGTGACCATGGCCAGGCTGGCGTTGTCTCCTGTGTCCAGCCACTGGC
TGGTGGCGTTGCTGCTGCTGCTCTCAGCAGCTGAGCCAGTGCCAGCAGCCAAATCAGAGGACCTG
TACCCGAATCCCAAAGGTAGTGCTTGTTCTCGGATCTGGCAGAGCCCACGTTTCATAGCCAGGAA
ACGGGGCTTCACGGTCAAAATGCACTGCTACGTGACCAACAGCACCTTCAGCATCGTGAGCTGGC
TCCGGAAGCGGGAGACGGACAAGGAGCCCCAACAGGTGAACCTGGAGCAGGGCCACATGCATCAG
ACCCAAAACAGCTCTGTCACCACCCTCATCATCCAAGACATCCGGTTTGAGGACAACGGCATCTA
CTTCTGTCAGCAGGAGTGCAGCAAGACCTCGGAGGTCTACCGGGGCTGCGGCACGGAGCTGCGAG
TCATGGGGTTCAGCACCTTGGCACAGCTGAAGCAGAGGAACACGCTGAAGGATGGCATCATCATG
ATCCAGACGCTGCTGATCATCCTCTTCATCATCGTGCCCATCTTCCTGCTGCTGGACAAGGATGA
CAGCAAGGCCGGCATGGAGGAAGATCACACCTACGAGGGCCTGGACATTGACCAGACGGCCACCT
ACGAGGACATAGTGACGCTGCGGACAGGGGAAGTGAAGTGGTCTGTGGGTGAGCACCCAGGTCAG
GAGTGAGAGCCAGGACCTCCCCACGGCCTGGGTGCAGGCTCCCCAGCC

图 42

<p1.cynoCD79b
DNA548455

MARLALSPVSSHWLVALLLLLLSAAEPVPAAKSEDLYPNPKGSACSRIWQSPRFIARKRGFT
VKMHCYVTNSTFSIVSWLRKRETDKEPQQVNLEQGHMHQTQNSSVTTLIIQDIRFEDNGIY
FCQQECSKTSEVYRGCGTELRVMGFSTLAQLKQRNTLKDGIIMIQTLLIILFIIVPIFLLL
DKDDSKAGMEEDHTYEGLDIDQTATYEDIVTLRTGEVKWSVGEHPGQE

信号序列
氨基酸 1-26.

跨膜结构域
氨基酸 161-181.

免疫球蛋白结构域
氨基酸 59-126.

免疫受体基于酪氨酸的活化基序
氨基酸 195-215.

免疫球蛋白 V 集合结构域
氨基酸 44-145.

N-糖基化位点
氨基酸 70-73, 103-106.

cAMP 和 cGMP 依赖性蛋白激酶磷酸化位点
氨基酸 81-84.

蛋白激酶 C 磷酸化位点
氨基酸 50-52, 61-63, 84-86, 158-160, 214-216.

酪蛋白激酶 II 磷酸化位点
氨基酸 22-25, 84-87, 158-161, 208-211, 223-226.

酪氨酸激酶磷酸化位点
氨基酸 115-122.

N-肉豆蔻酰化位点
氨基酸 41-46, 120-125.

图 43

嵌合抗猕猴 CD79b（ch10D10）轻链

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

图 44

嵌合抗猕猴 CD79b（ch10D10）轻链

DIVLTQSPPSLAVSLGQRATISCRASESVDSYGKTFMHWHQQKPGQPPKLLIYRVSNLESGIPAR
FSGSGSRTDFTLTINPVEADDVATYYCQQSNEDPFTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK
SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV
YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图 45

嵌合抗猕猴 CD79b（ch10D10）重链

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

图 46

嵌合抗猕猴 CD79b（ch10D10）重链

EVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWIRQFPGNKLEWMGNIWYSGSTTYNPSLK
SRISITRDTSKNQFFLQLNSVTSEDTATYYCSRMDFWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC
NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD
VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP
PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

图 47

抗猕猴 CD79b ch10D10 A118C 半胱氨酸改造重链 ThioMAb

A. 轻链序列

Thio-抗-cyno CD79b (ch10D10)-HC-A118C (LC)

DIVLTQSPPSLAVSLGQRATISCRASESVDSYGKTFMHWHQQKPGQPPKLLIYRVSNLESGIPAR
FSGSGSRTDFTLTINPVEADDVATYYCQQSNEDPFTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK
SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV
YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 245)

B. 重链序列

Thio-抗-cyno CD79b (ch10D10)-HC-A118C (HC)

DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWIRQFPGNKLEWMGNIWYSGSTTYNPSLK
SRISITRDTSKNQFFLQLNSVTSEDTATYYCSRMDFWGQGTTLTVSSCSTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC
NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT*CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD*
VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP
PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
(SEQ ID NO: 244)

图 48

抗猕猴 CD79b ch10D10 A118C 半胱氨酸改造重链 ThioMAb

A. 轻链序列

Thio-抗-cyno CD79b (ch10D10)-HC-V205C (LC)

DIVLTQSPPSLAVSLGQRATISCRASESVDSYGKTFMHWHQQKPGQPPKLLIYRVSNLESGIPAR
FSGSGSRTDFTLTINPVEADDVATYYCQQSNEDPFTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK
SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV
YACEVTHQGLSSPCTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 300)

B. 重链序列

Thio-抗-cyno CD79b (ch10D10)-HC-V205C (HC)

DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWIRQFPGNKLEWMGNIWYSGSTTYNPSLK
SRISITRDTSKNQFFLQLNSVTSEDTATYYCSRMDFWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC
NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT*CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD*
VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP
PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 299)

图 49

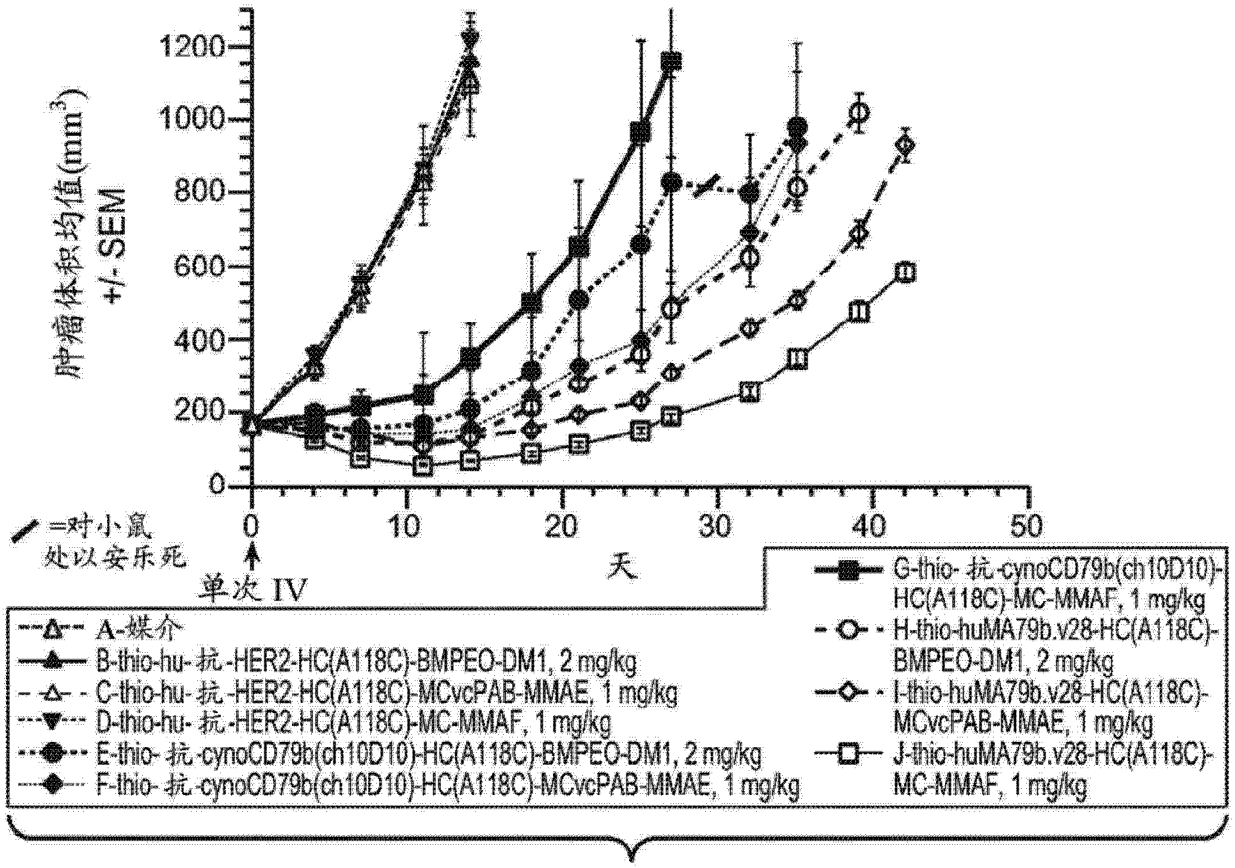

肿瘤体积均值(mm3)
+/- SEM
1200
1000
800
600
400
200
0
0
10
20
30
40
50
天
=对小鼠
处以安乐死
单次 IV
A-媒介
B-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 2 mg/kg
C-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE, 1 mg/kg
D-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-MC-MMAF, 1 mg/kg
E-thio-抗-cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 2 mg/kg
F-thio-抗-cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)-MCvcPAB-MMAE, 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

图 50

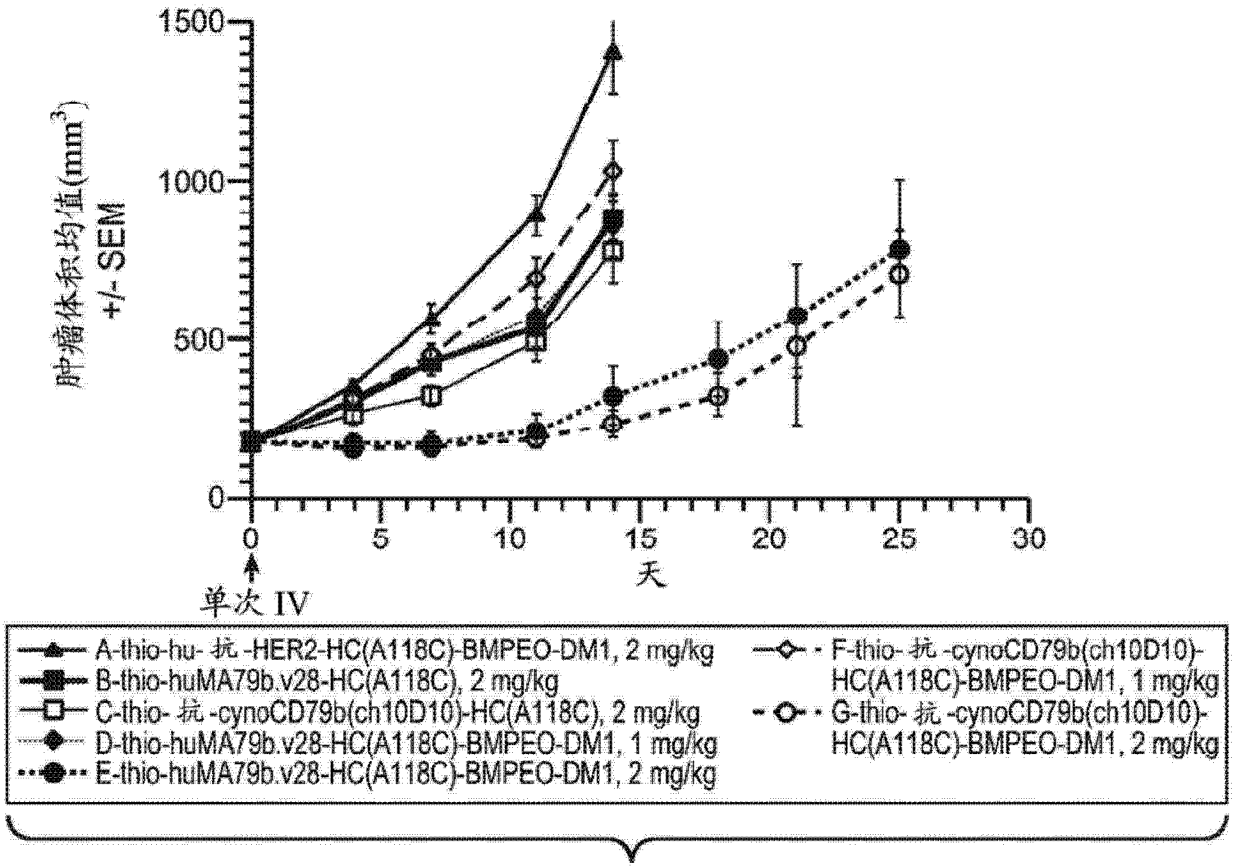

肿瘤体积均值(mm3)
+/- SEM
1500
1000
500
0
0
5
10
15
20
25
30
天
单次 IV
A-thio-hu-抗-HER2-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 2 mg/kg
B-thio-huMA79b.v28-HC(A118C), 2 mg/kg
C-thio-抗-cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C), 2 mg/kg
D-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 1 mg/kg
E-thio-huMA79b.v28-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 2 mg/kg
F-thio-抗-cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 1 mg/kg
G-thio-抗-cynoCD79b(ch10D10)-HC(A118C)-BMPEO-DM1, 2 mg/kg

图 51

Abstract

This invention related to anti-CD79b antibodies and immunoconjugates and methods of use. The present invention is directed to humanized and conjugated antibodies against CD79b useful for the treatment of hematopoietic tumor in mammals and to methods of using those antibodies for the same.