



(21)申請案號：104140842

(22)申請日：中華民國 104 (2015) 年 12 月 04 日

(51)Int. Cl. : C07K16/28 (2006.01) A61K39/395 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01) A61P37/02 (2006.01)

(30)優先權：2014/12/05 美國 62/088,487

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

美國

(72)發明人：孫麗萍 SUN, LIPING L. (CN)；陳文怡 CHEN, YUVONNE MAN YEE (US)；丹尼斯 馬克 S DENNIS, MARK S. (US)；艾班斯 艾倫 J 二世 EBENS, ALLEN J., JR. (US)；波森 安佐 POLSON, ANDREW (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：65 項 圖式數：8 共 149 頁

(54)名稱

抗 CD 79 b 抗體及其使用方法

ANTI-CD79B ANTIBODIES AND METHODS OF USE

(57)摘要

本發明提供抗 CD79b 抗體及其使用方法。

The invention provides anti-CD79b antibodies and methods of using the same.

指定代表圖：

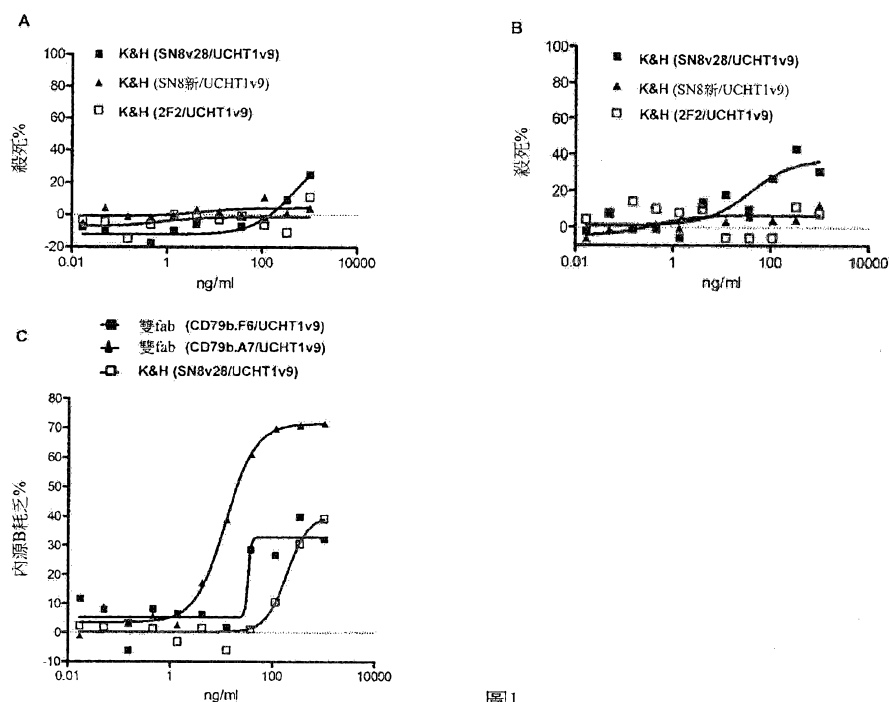


圖 1

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】

抗CD79b抗體及其使用方法

ANTI-CD79b ANTIBODIES AND METHODS OF USE

相關申請案之交叉參考

本案主張2014年12月5日申請之美國臨時申請案第62/088487號的優先權，該案以全文引用的方式併入本文中。

序列表

本案含有序列表，該序列表已以ASCII格式以電子方式提交且其全部內容以引用之方式併入本文中。該ASCII複本於2015年11月30日創建，命名為P32464_SL.txt且大小為43,460個位元組。

【技術領域】

本發明係關於抗CD79b抗體，包括包含CD3結合域的抗CD79b抗體(例如抗CD79b/CD3 T細胞依賴性雙特異性(TDB)抗體)及其使用方法。

【先前技術】

細胞增殖性病變(諸如癌症)的特徵為細胞亞群之生長不受控制。其為發達世界之主要死亡病因且為發展中國家之第二大死亡病因，其中每年診斷出新癌症個案逾1200萬且發生7百萬癌症死亡。國家癌症研究所(National Cancer Institute)估計，2013年，一百萬美國人中超過一半死於癌症，佔該國死亡之近四分之一。隨著老年人口增長，癌症發生率同時上升，原因為七十歲之後，產生癌症之機率高超過兩倍。癌症照護因此代表著顯著且不斷增長的社會負擔。

CD79b為B細胞受體之信號傳導組分且充當含有CD79a (亦即Igα

或mb-1)及CD79b (亦即Ig β 或B29)的共價雜二聚體。CD79b含有細胞外免疫球蛋白(Ig)域、跨膜域及細胞內信號傳導域(基於免疫受體酪氨酸之活化基元(ITAM)域)。藉由使用流式細胞術已偵測到幾乎所有非霍奇金氏淋巴瘤(non-Hodgkin lymphoma, NHL)及慢性淋巴球性白血病(CLL)患者中的CD79b表面表現。Dornan等人, *Blood* 114(13):2721-9 (2009)。除其信號傳導功能之外, 當B細胞受體交聯時, 作為B細胞呈遞II級抗原的一部分, 其靶向主要組織相容複合體II級區室(一種溶酶體樣區室)。

CD79b之此生物學特徵使得其成為使用ADC之特別誘人的目標, 原因在於針對CD79b之抗體經內化且遞送至此等溶酶體區室, 其已知含有可釋放細胞毒性藥物的蛋白酶。因此, 已產生抗體-藥物結合物(ADC)(諸如人類化抗CD79b抗體(人類化SN8)藉由蛋白酶可裂解連接子與單甲基阿瑞他汀E (monomethylauristatin E, MMAE)結合), 其已顯示可在臨床上有效治療NHL。參見例如美國專利第8,088,378號及Morschhauser等人, 「4457 Updated Results of a Phase II Randomized Study (ROMULUS) of Polatuzumab Vedotin or Pinatuzumab Vedotin Plus Rituximab in Patients with Relapsed/Refractory Non-Hodgkin Lymphoma」第56屆ASH年度會議及展覽會: 2014年12月6-9日。儘管使用抗CD79b ADC治療劑的NHL及CLL療法已有進展, 但NHL及CLL患者對改良之療法的要求仍然未得到滿足, 尤其是對於抗CD79b ADC療法具有抗性的彼等患者。

最近, 已開發出基於雙特異性抗體的免疫療法, 其能夠同時結合細胞毒性細胞及腫瘤細胞上的細胞表面抗原, 其意圖為所結合之細胞毒性細胞將摧毀所結合之腫瘤細胞。相較於抗體-藥物結合物, 此類雙特異性抗體可具有優勢, 例如功效及/或安全。因此, 在開發用於癌症療法中之有效雙特異性抗體的領域中存在未滿足的要求。

【發明內容】

本發明提供抗CD79b抗體及其使用方法。詳言之，本文提供包含CD79b結合域及CD3結合域的抗CD79b抗體。

在一個態樣中，本文提供經分離之抗CD79b抗體，該抗體包含含有以下六個高變區(HVR)的CD79b結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 5之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 10之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L3。

在一些實施例中，CD79b結合域包含以下六個HVR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 6之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 10之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L3。在一些實施例中，抗CD79b抗體包含(a)與胺基酸序列SEQ ID NO: 17、21、23、25、27或29具有至少95%序列一致性的VH序列；(b)與胺基酸序列SEQ ID NO: 18、22、24、26、28或30具有至少95%序列一致性的VL序列；或(c)如同(a)中的VH序列及如同(b)中的VL序列。在一些實施例中，抗CD79b包含SEQ ID NO: 17、21、23、25、27或29之VH序列。在一些實施例中，抗CD79b抗體包含SEQ ID NO: 18、22、24、26、28或30之VL序列。

在一些實施例中，CD79b結合域包含以下六個HVR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 4之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 10之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L3。在一

些實施例中，抗CD79b抗體包含(a)與胺基酸序列SEQ ID NO: 19具有至少95%序列一致性的VH序列；(b)與胺基酸序列SEQ ID NO: 20具有至少95%序列一致性的VL序列；或(c)如同(a)中之VH序列及如同(b)中之VL序列。在一些實施例中，抗CD79b抗體包含SEQ ID NO: 19之VH序列。在一些實施例中，抗CD79b抗體包含SEQ ID NO: 20之VL序列。

在任一種抗CD79b抗體的一些實施例中，CD79b結合域結合至SEQ ID NO: 63。

在任一種抗CD79b抗體的一些實施例中，抗CD79b抗體(例如CD79b結合域)係以雙臂二價IgG抗體形式、以小於約25 nM (例如小於約10 nM或5 nM中的任一者)之Kd結合人類CD79b。在一些實施例中，Kd係藉由BIACORE測定。在一些實施例中，Kd係根據以低密度固著的CD79b來測定。在任一種抗CD79b抗體的一些實施例中，抗CD79b抗體(例如CD79b結合域)係以雙臂二價IgG抗體形式、以小於約150 ng/mL (例如小於約100 ng/mL、75 ng/mL或50 ng/mL中的任一者)之EC₅₀結合B細胞(例如BJAB細胞)。在一些實施例中，藉由FACS測定與B細胞的結合。在任一種抗CD79b抗體的一些實施例中，抗CD79b抗體(例如CD79b結合域)係以單價形式(例如包含CD79b及CD3結合域的抗CD79b雙特異性抗體)、以小於約1.5 ug/mL (例如小於約1 ug/mL、0.75 ug/mL、0.5 ug/mL或0.25 ug/mL)之EC₅₀結合人類CD79b，結合B細胞(例如BJAB細胞)。在一些實施例中，藉由FACS測定與B細胞的結合。

在任一種抗CD79b抗體的一些實施例中，抗CD79b抗體為單株抗體、人類抗體、人類化抗體或嵌合抗體。在任一種抗CD79b抗體之一些實施例中，抗體為IgG抗體。在任一種抗CD79b抗體之一些實施例中，抗體為結合CD79b之抗體片段。在一些實施例中，抗體片段為

Fab、Fab'-SH、Fv、scFv及/或(Fab')₂片段。在任一種抗CD79b抗體之一些實施例中，抗體為全長抗體。

在任一種抗CD79b抗體之一些實施例中，抗CD79b抗體包含非糖基化位點突變。在一些實施例中，非糖基化位點突變為取代型突變。

在任一種抗CD79b抗體的一些實施例中，抗CD79b抗體包含減少之效應功能。在一些實施例中，抗體包含取代型突變，根據EU編號，該突變位於胺基酸殘基N297、L234、L235及/或D265。在一些實施例中，根據EU編號，取代型突變係選自由N297G、N297A、L234A、L235A及D265A組成之群。在一些實施例中，根據EU編號，抗體包含位於胺基酸殘基297的N297G取代型突變。

在任一種抗CD79b抗體的一些實施例中，抗CD79b抗體為單特異性抗體(例如二價雙臂抗體)。

在任一種抗CD79b抗體之一些實施例中，抗CD79b抗體為多特異性抗體。

在任一種多特異性抗體的一些實施例中，多特異性抗體包含CD3結合域。在一些實施例中，CD3結合域結合至人類CD3多肽或食蟹獼猴(cyno) CD3多肽。在一些實施例中，人類CD3多肽或食蟹獼猴CD3多肽分別為人類CD3 ϵ 多肽或食蟹獼猴CD3 ϵ 多肽。在一些實施例中，人類CD3多肽或食蟹獼猴CD3多肽分別為人類CD3 γ 多肽或食蟹獼猴CD3 γ 多肽。

在任一種多特異性抗體的一些實施例中，CD3結合域以250 nM或低於250 nM之Kd結合人類CD3 ϵ 多肽。在一些實施例中，CD3結合域係以100 nM或低於100 nM之Kd結合人類CD3 ϵ 多肽。在一些實施例中，CD3結合域係以15 nM或低於15 nM之Kd結合人類CD3 ϵ 多肽。在一些實施例中，CD3結合域係以10 nM或低於10 nM之Kd結合人類CD3 ϵ 多肽。在一些實施例中，CD3結合域係以5 nM或低於5 nM之Kd

結合人類CD3 ϵ 多肽。

在任一種多特異性抗CD79b抗體的一些實施例中，CD3結合域包含以下六個HVR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 45的HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 46的HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 47的HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 48的HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 49的HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 50的HVR-L3。在任一種多特異性抗CD79b抗體的一些實施例中，CD3結合域包含(a)與胺基酸序列SEQ ID NO: 59具有至少95%序列一致性的VH序列；(b)與胺基酸序列SEQ ID NO: 60具有至少95%序列一致性的VL序列；或(c)如同(a)中的VH序列及如同(b)中的VL序列。在一些實施例中，CD3結合域包含SEQ ID NO: 59之VH序列。在一些實施例中，CD3結合域包含SEQ ID NO: 60之VL序列。

在任一種多特異性抗CD79b抗體的一些實施例中，CD3結合域包含以下六個HVR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 39的HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 40的HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 41的HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 42的HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 43的HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 44的HVR-L3。在任一種多特異性抗CD79b抗體的一些實施例中，CD3結合域包含(a)與胺基酸序列SEQ ID NO: 57具有至少95%序列一致性的VH序列；(b)與胺基酸序列SEQ ID NO: 58具有至少95%序列一致性的VL序列；或(c)如同(a)中的VH序列及如同(b)中的VL序列。在一些實施例中，CD3結合域包含SEQ ID NO: 57之VH序列。在一些實施例中，CD3結合域包含SEQ ID NO: 58之VL序列。

在任一種多特異性抗CD79b抗體的一些實施例中，CD3結合域包含以下六個HVR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 51的HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 52的HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ

ID NO: 53的HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 54的HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 55的HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 56的HVR-L3。在任一種多特異性抗CD79b抗體的一些實施例中，CD3結合域包含(a)與胺基酸序列SEQ ID NO: 61具有至少95%序列一致性的VH序列；(b)與胺基酸序列SEQ ID NO: 62具有至少95%序列一致性的VL序列；或(c)如同(a)中的VH序列及如同(b)中的VL序列。在一些實施例中，CD3結合域包含SEQ ID NO: 61之VH序列。在一些實施例中，CD3結合域包含SEQ ID NO: 62之VL序列。

在任一種多特異性抗CD79b抗體之一些實施例中，抗CD79b抗體具有小於約100 ng/mL (例如小於約50、25、20或15 ng/mL中的任一者)的B細胞殺死EC₅₀。在一些實施例中，B細胞殺死為內源性B細胞殺死。在一些實施例中，B細胞殺死為細胞株B細胞殺死，例如BJAB細胞株、WSU-CLCL2細胞株、OCI-Ly-19細胞株。在任一種多特異性抗CD79b抗體的一些實施例中，抗CD79b抗體具有小於約50 ng/mL中之任一者(例如小於約25 ng/mL或20 ng/mL中的任一者)的細胞毒性T細胞活化EC₅₀。在一些實施例中，細胞毒性T細胞活化係根據CD8+ T細胞中之CD69+CD25+ T細胞百分比來度量。

在任一種多特異性抗CD79b抗體的一些實施例中，多特異性抗體為雙特異性抗體。

在任一種多特異性抗CD79b抗體的一些實施例中，(a)CD3結合域包含Fc域，其中該Fc域根據EU編號包含T366S、L368A、Y407V及N297G取代型突變，且(b)CD79b結合域包含Fc域，其中該Fc域根據EU編號包含T366W及N297G取代型突變。在任一種多特異性抗CD79b抗體的一些實施例中，(a) CD79b結合域包含Fc域，其中該Fc域根據EU編號包含T366S、L368A、Y407V及N297G取代型突變，且(b) CD3結合域包含Fc域，其中該Fc域根據EU編號包含T366W及N297G取代

型突變。

在任一種多特異性抗CD79b抗體的一些實施例中，抗CD79b抗體包含一或多個重鏈恆定域，其中該一或多個重鏈恆定域係選自第一CH1 (CH1₁)域、第一CH2 (CH2₁)域、第一CH3 (CH3₁)域、第二CH1 (CH1₂)域、第二CH2 (CH2₂)域及第二CH3 (CH3₂)域。在一些實施例中，一或多個重鏈恆定域中的至少一者與另一重鏈恆定域成對。在一些實施例中，CH3₁及CH3₂域各包含隆凸或空腔，且其中CH3₁域內之隆凸或空腔可分別定位於CH3₂域內之空腔或隆凸內。在一些實施例中，CH3₁與CH3₂域在該隆凸與空腔之間的界面相遇。在一些實施例中，CH2₁及CH2₂域各包含隆凸或空腔，且其中CH2₁域內之隆凸或空腔可分別定位於CH2₂域內之空腔或隆凸內。在一些實施例中，CH2₁與CH2₂域在該隆凸與空腔之間的界面相遇。

本文亦提供編碼本文所述抗CD79b抗體之經分離核酸。本文進一步提供載體，其包含編碼本文所述抗CD79b抗體之經分離核酸。本文提供包含載體的宿主細胞，該載體包含編碼本文所述抗CD79b抗體之經分離核酸。在一些實施例中，宿主細胞為真核宿主細胞。在一些實施例中，宿主細胞為哺乳動物宿主細胞(例如CHO)。在一些實施例中，宿主細胞為原核宿主細胞。在一些實施例中，原核細胞為大腸桿菌宿主細胞。本文進一步提供產生本文所述抗CD79b抗體之方法，其中該方法包含在培養基中培養本文所述之宿主細胞。

本文進一步提供免疫結合物，其包含本文所述之抗CD79b抗體及細胞毒性劑。

本文提供為包含本文所述抗CD79b抗體之醫藥組合物。

本文提供藥劑適用作藥劑的如本文所述之抗CD79b抗體。本文提供本文所述之抗CD79b抗體，用於治療或延遲有需要之個體之B細胞增殖性病變或自體免疫病症之演進。本文提供如本文所述之抗CD79b

抗體，用於增強患有B細胞增殖性病變或自體免疫病變之個體的免疫功能。在一些實施例中，B細胞增殖性病變為癌症。在一些實施例中，B細胞增殖性病變為淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、侵襲性NHL、復發侵襲性NHL、復發惰性NHL、難治性NHL、難治性惰性NHL、慢性淋巴球性白血病(CLL)、小淋巴細胞性淋巴瘤、白血病、毛細胞白血病(HCL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)及/或套細胞淋巴瘤。在任一種B細胞增殖性病變的一些實施例中，B細胞增殖性病變對於抗CD79b抗體藥物結合物(例如抗CD79b MMAE抗體藥物結合物)療法具有抗性。在一些實施例中，自體免疫病變係選自由以下組成之群：類風濕性關節炎、幼年型類風濕性關節炎、全身性紅斑狼瘡(SLE)、韋格納氏疾病(Wegener's disease)、發炎性腸病、特發性血小板減少性紫癜(ITP)、血栓性血小板減少性紫癜症(TTP)、自體免疫血小板減少症、多發性硬化症、牛皮癬、IgA腎病變、IgM多發性神經病、重症肌無力、血管炎、糖尿病、雷諾氏症候群(Reynaud's syndrome)、休格連氏症候群(Sjorgen's syndrome)、腎絲球腎炎、視神經脊髓炎(NMO)及IgG神經病變。

本文提供任一種本文所述抗CD79b抗體的用途，係用於製造供治療或延遲細胞增殖性病變或自體免疫病變之演進的藥物。本文提供任一種本文所述抗CD79b抗體之用途，係用於製造供增強患有細胞增殖性病變或自體免疫病變之個體之免疫功能的藥物。在一些實施例中，B細胞增殖性病變為癌症。在一些實施例中，B細胞增殖性病變為淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、侵襲性NHL、復發侵襲性NHL、復發惰性NHL、難治性NHL、難治性惰性NHL、慢性淋巴球性白血病(CLL)、小淋巴細胞性淋巴瘤、白血病、毛細胞白血病(HCL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)及/或套細胞淋巴瘤。在任一種B細胞增殖性病變的一些實施例中，B細胞增殖性病變對於抗CD79b抗體藥物結合

物(例如抗CD79b MMAE抗體藥物結合物)療法具有抗性。在一些實施例中，自體免疫病症係選自由以下組成之群：類風濕性關節炎、幼年型類風濕性關節炎、全身性紅斑狼瘡(SLE)、韋格納氏疾病、發炎性腸病、特發性血小板減少性紫癜(ITP)、血栓性血小板減少性紫癜症(TTP)、自體免疫血小板減少症、多發性硬化症、牛皮癬、IgA腎病變、IgM多發性神經病、重症肌無力、血管炎、糖尿病、雷諾氏症候群、休格連氏症候群、腎絲球腎炎、視神經脊髓炎(NMO)及IgG神經病變。

本文提供治療或延遲有需要之個體之細胞增殖性病變或自體免疫病症之演進的方法，該方法包含向個體投與本文所述之抗CD79b抗體。本文提供增強患有細胞增殖性病變或自體免疫病症之個體之免疫功能的方法，該方法包含向該個體投與有效量之本文所述抗CD79b抗體。在一些實施例中，B細胞增殖性病變為癌症。在一些實施例中，B細胞增殖性病變為淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、侵襲性NHL、復發侵襲性NHL、復發惰性NHL、難治性NHL、難治性惰性NHL、慢性淋巴球性白血病(CLL)、小淋巴細胞性淋巴瘤、白血病、毛細胞白血病(HCL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)及/或套細胞淋巴瘤。在任一種B細胞增殖性病變的一些實施例中，B細胞增殖性病變對於抗CD79b抗體藥物結合物(例如抗CD79b MMAE抗體藥物結合物)療法具有抗性。在一些實施例中，自體免疫病症係選自由以下組成之群：類風濕性關節炎、幼年型類風濕性關節炎、全身性紅斑狼瘡(SLE)、韋格納氏疾病、發炎性腸病、特發性血小板減少性紫癜(ITP)、血栓性血小板減少性紫癜症(TTP)、自體免疫血小板減少症、多發性硬化症、牛皮癬、IgA腎病變、IgM多發性神經病、重症肌無力、血管炎、糖尿病、雷諾氏症候群、休格連氏症候群、腎絲球腎炎、視神經脊髓炎(NMO)及IgG神經病變。

在任一種方法的一些實施例中，抗CD79b抗體結合至(a)位於免疫效應細胞上的CD3分子及(b)位於B細胞上的CD79b。在一些實施例中，抗CD79b抗體結合至(a)及(b)之後，活化免疫效應細胞。在任一種方法之一些實施例中，活化免疫效應細胞能夠對靶細胞發揮細胞毒性效應及/或細胞凋亡效應。

在任一種方法之一些實施例中，方法進一步包含向該個體投與PD-1軸結合拮抗劑或其他治療劑。在一些實施例中，PD-1軸結合拮抗劑為PD-1結合拮抗劑。在一些實施例中，PD-1軸結合拮抗劑為PD-L1結合拮抗劑。在一些實施例中，PD-1軸結合拮抗劑為PD-L2結合拮抗劑。

在任一種方法的一些實施例中，方法進一步包含向個體投與糖皮質激素。在一些實施例中，糖皮質激素為地塞米松(dexamethasone)。

在任一種方法的一些實施例中，方法進一步包含向個體投與利妥昔單抗(rituximab)。

【圖式簡單說明】

圖1A-C顯示以K&H形式或以雙fab (不同抗CD79b純系與抗CD3純系UCHT1v9配對)產生之抗CD79b/CD3 TDB (T細胞依賴性雙特異性)抗體的內源性B細胞殺死。200,000個PBMC與或不與抗CD79b TDB一起培育24小時。培育結束時，藉由對CD19+/PI-群體進行閘選來對活B細胞數目進行計數。如下計算B細胞殺死百分比： $(\text{無TDB之活B細胞數目} - \text{具有TDB之活B細胞數目}) / (\text{無TDB之活B細胞數目}) * 100$ 。

圖2A-D顯示雙fab抗CD79b/CD3 (CD79b.A7/UCHT1v9)之B細胞殺死及T細胞活化活性。A及B：200,000 PBMC與或不與抗CD79b TDB一起培育24小時。培育結束時，藉由對CD19+/PI-群體進行閘選來對活B細胞數目進行計數。B細胞殺死百分比(A)如下計算： $(\text{無TDB之活B細胞數目} - \text{具有TDB之活B細胞數目}) / (\text{無TDB之活B細胞數目}) * 100$ 。

B細胞數目 - 具有 TDB 之活 B 細胞數目)/(不具有 TDB 之活 B 細胞數目)*100；T細胞活化(B)係藉由對CD8+ T細胞群中之CD69+/CD25+細胞進行閘選來量測。C及D：20,000個BJAB細胞及100,000個CD8+ T細胞與或不與抗CD79b TDB一起培育24小時。培育結束時，藉由對CD19+/PI-群體進行閘選來對活B細胞數目進行計數。B細胞殺死百分比(C)如下計算：(無 TDB 之活 B 細胞數目 - 具有 TDB 之活 B 細胞數目)/(無 TDB 之活 B 細胞數目)*100；T細胞活化(D)係藉由對CD8+ T細胞群中之CD69+/CD25+細胞進行閘選來量測。

圖3A-C顯示藉由FACS量測之不同抗CD79b純系的單價或二價結合親和力。將BJAB細胞與如所指示之抗CD79b抗體(二價雙臂抗體)或抗CD79b/CD3 TDB抗體一起在冰上培育30分鐘。培育結束時，用冰冷的FACS緩衝液(1×PBS、2% BSA、2 mM EDTA)洗滌細胞，隨後與經PE標記之小鼠抗人類IgG抗體(BD bioscience #555787)一起培育。在BD LSR分析儀上進行流式細胞儀分析。抗體結合係以PE螢光團之平均螢光強度(MFI)表示。A：抗CD79b純系2F2之二價結合親和力與抗CD79b純系2F2、SN8v28及SN8new (作為K&H TDB)之單價結合親和力的比較；B：抗CD79b純系CD79b.F6及CD79b.A7之二價結合親和力與抗CD79b純系CD79b.F6、CD79b.A7及SN8v28 (作為雙fab或K&H TDB)之單價結合的比較；C：抗CD79b純系CD79b.A7.v14之二價結合親和力與抗CD79b純系CD79b.A7.v14 (作為K&H TDB)之單價結合的比較。

圖4A-B顯示CD79b抗體變異體之(A)重鏈可變區(按出現之次序分別為SEQ ID NO 13、15、17、19、21、23、25、27及29)及(B)輕鏈可變區(按出現之次序分別為SEQ ID NO 14、16、18、20、22、24、26、28及30)之比對。

圖5A-B顯示抗CD79b/CD3 TDB (CD79b.A7.v14與抗CD3純系

40G5c或38E4v1配對)之B細胞殺死及T細胞活化活性。200,000個PBMC與或不與抗CD79b TDB一起培育48小時。培育結束時，藉由對CD19+/PI-群體進行閘選來對活B細胞數目進行計數。B細胞殺死百分比(A)如下計算： $(\text{無TDB之活B細胞數目} - \text{具有TDB之活B細胞數目}) / (\text{不具有TDB之活B細胞數目}) * 100$ ；T細胞活化(B)係藉由對CD8⁺ T細胞群中之CD69⁺/CD25⁺細胞進行閘選來量測。

圖6A-B顯示抗CD79b/CD3 TDB (CD79b.A7v14/38E4v1)之B細胞殺死及T細胞活化活性。將20,000個BJAB或WSU-DLCL2個細胞及100,000個CD8⁺ T細胞與或不與抗CD79b TDB一起培育48小時。培育結束時，藉由對CD19+/PI-群體進行閘選來對活B細胞數目進行計數。B細胞殺死百分比(A)如下計算： $(\text{無TDB之活B細胞數目} - \text{具有TDB之活B細胞數目}) / (\text{不具有TDB之活B細胞數目}) * 100$ ；T細胞活化(B)係藉由對CD8⁺ T細胞群中之CD69⁺/CD25⁺細胞進行閘選來量測。

圖7A-C顯示抗CD79b/CD3 TDB抗體(A7.v14b/38E4v1)之B細胞殺死活性。將20,000個B淋巴瘤細胞(如所指示)及100,000個CD8⁺ T細胞與或不與抗CD79b TDB一起培育48小時。培育結束時，藉由對CD19+/PI-群體進行閘選來對活B細胞數目進行計數。如下計算B細胞殺死百分比： $(\text{無TDB之活B細胞數目} - \text{具有TDB之活B細胞數目}) / (\text{無TDB之活B細胞數目}) * 100$ 。A.顯示針對BJAB、WSU-DLCL2及OCI-LY-19細胞之B細胞殺死的劑量反應曲線，其中HT細胞為CD79b陰性對照物；B-C.顯示使用5000 ng/ml抗CD79 TDB的B細胞殺死(雙重複，平均值±STD)。

圖8A-B顯示抗CD79b/CD3 TDB抗體(CD79b.A7.v14b/38E4v1)之活體外及活體內B細胞殺死活性。BJAB細胞變異體(BJAB-CD79b ADC-R T1.1及BJAB-SN8v28vcE CD79b ADC-R T1.2)來源於經抗CD79b-MC-vc-PAB-MMAE處理之小鼠中的無反應BJAB異種移植腫

瘤。A.顯示活體外BJAB細胞殺死之劑量反應曲線：將20,000個BJAB或BJAB變異型細胞(如所指示)及100,000個CD8⁺ T細胞與或不與抗CD79b/CD3 TDB抗體(CD79b.A7.v14b/38E4v1)一起培育48小時。培育結束時，藉由對CD19⁺/PI-群體進行閘選來對活B細胞數目進行計數。B細胞殺死百分比如下計算： $(\text{無TDB之活B細胞數目} - \text{具有TDB之活B細胞數目}) / (\text{無TDB之活B細胞數目}) \times 100$ ；B.抗CD79b/CD3 TDB抗體(CD79b.A7.v14b/38E4v1)防止活體內BJAB腫瘤生長：將BJAB細胞及來自健康供者的PBMC混合且皮下接種，接著如所指示處理小鼠。在直至42天的整個研究期間量測腫瘤體積。

【實施方式】

I. 定義

除非另外指明，否則如本文所用，術語「CD79b」係指來自任何脊椎動物來源的任何原生CD79b，包括哺乳動物，諸如靈長類動物(例如人類、食蟹獼猴(cyno))及嚙齒動物(例如小鼠及大鼠)。人類CD79b在本文中亦稱為「Igβ」、「B29」、「DNA225786」或「PRO36249」。包括信號序列的例示性CD79b序列顯示於SEQ ID NO: 1中。無信號序列的例示性CD79b序列顯示於SEQ ID NO: 2中。術語「CD79b」涵蓋未經處理之「全長」CD79b以及由在細胞中處理而產生的任何CD79b形式。術語亦涵蓋天然存在之CD79b變異體，例如剪接變異體、對偶基因變異體及同功異型物。本文所述之CD79b多肽可自多種來源分離，諸如自人類組織類型或自另一來源分離，或藉由重組或合成方法製備。「原生序列CD79b多肽」包含具有與來源於自然界之相應CD79b多肽相同之胺基酸序列的多肽。此類原生序列CD79b多肽可自自然界中分離或可藉由重組或合成方式產生。術語「原生序列CD79b多肽」特別涵蓋特定CD79b多肽的天然存在之截斷或分泌形式(例如胞外域序列)、多肽之天然存在之變異體形式(例如交替剪接形

式)及天然存在之對偶基因變異體。

除非另外指明，否則如本文所用，術語「分化叢集3」或「CD3」係指來自任何脊椎動物來源(包括哺乳動物，諸如靈長類動物(例如人類)及啮齒動物(例如小鼠及大鼠))的任何原生CD3，包括例如CD3 ϵ 、CD3 γ 、CD3 α 及CD3 β 鏈。術語涵蓋「全長」、「未處理CD3(例如未處理或未修飾之CD3 ϵ 或CD3 γ)」以及由在細胞中處理而產生的任何CD3形式。術語亦涵蓋天然存在之CD3變異體，包括例如剪接變異體或對偶基因變異體。CD3包括例如人類CD3 ϵ 蛋白質(NCBI RefSeq第NP_000724號)，其長度為207個胺基酸；及人類CD3 γ 蛋白質(NCBI RefSeq第NP_000064號)，其長度為182個胺基酸。

術語「抗CD79b抗體」及「結合至CD79b之抗體」係指能夠以足夠親和力結合CD79b的抗體，使得該抗體適用作靶向CD79b之診斷劑及/或治療劑。在一個實施例中，抗CD79b抗體與無關之非CD79b蛋白質結合的程度小於該抗體與CD79b之結合的約10%，如藉由例如放射免疫分析(RIA)所量測。在某些實施例中，結合至CD79b之抗體的解離常數(Kd) $\leq 1 \mu\text{M}$ 、 $\leq 100 \text{ nM}$ 、 $\leq 10 \text{ nM}$ 、 $\leq 1 \text{ nM}$ 、 $\leq 0.1 \text{ nM}$ 、 $\leq 0.01 \text{ nM}$ 或 $\leq 0.001 \text{ nM}$ (例如 10^{-8} M 或小於 10^{-8} M ，例如 10^{-8} M 至 10^{-13} M ，例如 10^{-9} M 至 10^{-13} M)。在某些實施例中，抗CD79b抗體結合至CD79b之抗原決定基，該抗原決定基在來自不同物種之CD79b中具保守性。

術語「抗CD3抗體」及「結合至CD3之抗體」係指能夠以足夠親和力結合CD3之抗體，使得該抗體適用作靶向CD3之診斷劑及/或治療劑。在一個實施例中，抗CD3抗體與無關之非CD3蛋白質結合的程度小於該抗體與CD3之結合的約10%，如藉由例如放射免疫分析(RIA)所量測。在某些實施例中，結合至CD3之抗體的解離常數(Kd) $\leq 1 \mu\text{M}$ 、 $\leq 100 \text{ nM}$ 、 $\leq 10 \text{ nM}$ 、 $\leq 1 \text{ nM}$ 、 $\leq 0.1 \text{ nM}$ 、 $\leq 0.01 \text{ nM}$ 或 $\leq 0.001 \text{ nM}$ (例如 10^{-8} M 或小於 10^{-8} M ，例如 10^{-8} M 至 10^{-13} M ，例如 10^{-9} M 至 10^{-13} M)。

M)。在某些實施例中，抗CD3抗體結合至CD3之抗原決定基，該抗原決定基在來自不同物種的CD3中具保守性。

術語「抗體」在本文中以最廣泛意義使用且涵蓋各種抗體結構，包括(但不限於)單株抗體、多株抗體、多特異性抗體(例如雙特異性抗體)及抗體片段，只要其展現所需抗原結合活性即可。

「抗體片段」係指除完整抗體之外的包含完整抗體之一部分的分子，該部分結合該完整抗體所結合之抗原。抗體片段之實例包括(但不限於) Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂；雙功能抗體；線性抗體；單鏈抗體分子(例如scFv)；及由抗體片段形成之多特異性抗體。

抗體之「類別」係指其重鏈所具有之恆定域或恆定區之類型。抗體存在五種主要類別：IgA、IgD、IgE、IgG及IgM，且其中若干者可進一步分成子類(同型)，例如IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁及IgA₂。對應於不同類別之免疫球蛋白之重鏈恆定域分別稱為 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 及 μ 。

「分離」抗體為已與其天然環境之組分分離之抗體。在一些實施例中，抗體純化達到大於95%或99%之純度，如藉由例如電泳(例如SDS-PAGE、等電聚焦(IEF)、毛細電泳法)或層析(例如離子交換或逆相HPLC)所測定。欲回顧用於評估抗體純度之方法，參見例如Flatman等人, *J. Chromatogr. B* 848:79-87 (2007)。

術語「全長抗體」、「完整抗體」及「全抗體」在本文中可互換使用且係指結構實質上類似於原生抗體結構或具有含有如本文所定義之Fc區之重鏈的抗體。

如本文所用，術語「單株抗體」係指自實質上均質抗體之群體獲得之抗體，亦即除可能之變異型抗體(例如含有天然存在之突變或在產生單株抗體製劑期間產生之變異抗體，此等變異體一般以較小量存在)之外，構成該群體之個別抗體相同及/或結合相同抗原決定基。

相比於典型地包括針對不同決定子(抗原決定基)之不同抗體的多株抗體製劑，單株抗體製劑之各單株抗體係針對抗原上之單一決定子。因此，修飾語「單株」指示獲自實質上均質抗體群體之抗體的特性，且不應理解為需要藉由任何特定方法產生該抗體。舉例而言，根據本發明使用之單株抗體可藉由多種技術製得，包括(但不限於)融合瘤方法、重組DNA方法、噬菌體呈現方法及利用含有所有或部分人類免疫球蛋白基因座之轉殖基因動物的方法，此類方法及其他製備單株抗體之例示性方法在本文中描述。

「人類化」抗體係指包含來自非人類HVR之胺基酸殘基及來自人類FR之胺基酸殘基之嵌合抗體。在某些實施例中，人類化抗體將包含至少一個且典型地兩個可變域之實質上所有者，其中所有或實質上所有HVR (例如CDR)皆對應於非人類抗體之HVR，且所有或實質上所有FR皆對應於人類抗體之FR。人類化抗體視情況可包含來源於人類抗體之抗體恆定區之至少一部分。抗體(例如非人類抗體)之「人類化形式」係指已經歷人類化之抗體。

術語「嵌合」抗體係指重鏈及/或輕鏈之一部分來源於特定來源或物種，而重鏈及/或輕鏈之其餘部分來源於不同來源或物種之抗體。

「人類抗體」為胺基酸序列對應於由人類或人類細胞產生或來源於利用人類抗體譜系或其他人類抗體編碼序列之非人類來源之抗體之胺基酸序列的抗體。人類抗體之此定義特定排除包含非人類抗原結合殘基之人類化抗體。

「裸抗體」係指未與異質部分(例如細胞毒性部分)或放射性標記結合之抗體。裸抗體可存在於醫藥調配物中。

「原生抗體」係指具有不同結構的天然存在之免疫球蛋白分子。舉例而言，天然IgG抗體為約150,000道爾頓(dalton)之雜四聚體醣

蛋白，由二硫鍵鍵結之兩條相同輕鏈及兩條相同重鏈構成。自N末端至C末端，各重鏈具有可變區(VH)，亦稱為可變重鏈域或重鏈可變域，繼之為三個恆定域(CH1、CH2及CH3)。類似地，自N末端至C末端，各輕鏈具有可變區(VL)，亦稱為可變輕鏈域或輕鏈可變域，繼之為恆定輕鏈(CL)域。抗體輕鏈可基於其恆定域之胺基酸序列而歸為兩種類型之一，稱為 κ 及 λ 。

術語「可變區」或「可變域」係指涉及抗體結合至抗原之抗體重鏈或輕鏈域。原生抗體之重鏈及輕鏈(分別為VH及VL)可變域一般具有類似的結構，其中各域包含四個保守性構架區(FR)及三個高變區(HVR)。(參見例如Kindt等人, *Kuby Immunology*, 第6版, W.H. Freeman and Co., 第91頁(2007).) 單一VH或VL域可足以賦予抗原結合特異性。此外，可使用來自結合抗原之抗體的VH或VL域分離結合特定抗原之抗體以分別篩選互補VL或VH域之文庫。參見例如Portolano等人, *J. Immunol.* 150:880-887 (1993); Clarkson等人, *Nature* 352:624-628 (1991)。

「構架」或「FR」係指除高變區(HVR)殘基之外的可變域殘基。可變域之FR通常由四個FR域組成：FR1、FR2、FR3及FR4。因此，在VH (或VL)中，HVR及FR序列一般依以下序列呈現：FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4。

如本文所用，術語「高變區」或「HVR」係指抗體可變域中序列高變(「互補決定區」或「CDR」)及/或形成結構上定義為環(「高變環」)及/或含有抗原接觸殘基(「抗原接點」)之各個區域。一般而言，抗體包含六個HVR：三個在VH(H1、H2、H3)中，且三個在VL(L1、L2、L3)中。本文中之例示性HVR包括：

(a)存在於胺基酸殘基26-32 (L1)、50-52 (L2)、91-96 (L3)、26-32 (H1)、53-55 (H2)及96-101 (H3)的高變環(Chothia及Lesk, *J. Mol. Biol.*

196:901-917 (1987)) ;

(b)存在於胺基酸殘基24-34 (L1)、50-56 (L2)、89-97 (L3)、31-35b (H1)、50-65 (H2)及95-102 (H3)之CDR(Kabat等人, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第5版, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)) ;

(c)存在於胺基酸殘基27c-36 (L1)、46-55 (L2)、89-96 (L3)、30-35b (H1)、47-58 (H2)及93-101 (H3)之抗原接點(MacCallum等人, *J. Mol. Biol.* 262: 732-745 (1996)) ; 及

(d) (a)、(b)及/或(c)之組合, 包括HVR胺基酸殘基46-56 (L2)、47-56 (L2)、48-56 (L2)、49-56 (L2)、26-35 (H1)、26-35b (H1)、49-65 (H2)、93-102 (H3)及94-102 (H3)。

除非另外指明, 否則可變域中之HVR殘基及其他殘基(例如FR殘基)在本文中係根據Kabat等人(同上)進行編號。

在本文中, 術語「Fc區」用於定義含有恆定區之至少一部分的免疫球蛋白重鏈C末端區。該術語包括原生序列Fc區及變異型Fc區。在一個實施例中, 人類IgG重鏈Fc區自Cys226或自Pro230延伸至重鏈之羧基末端。然而, Fc區之C末端離胺酸(Lys447)可存在或可不存在。除非本文另外說明, 否則Fc區或恆定區胺基酸殘基之編號係依據EU編號系統, 亦稱為EU索引, 如以下文獻中所述: Kabat等人, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第5版 Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991。

「變異型Fc區」包含因至少一個胺基酸修飾(較佳為一或多個胺基酸取代)而不同於原生序列Fc區的胺基酸序列。相較於原生序列Fc區或相較於親本多肽之Fc區, 變異型Fc區較佳具有至少一個胺基酸取代, 例如約一個至約十個胺基酸取代; 且在原生序列Fc區中或親本多肽之Fc區中較佳具有約一個至約五個胺基酸取代。本文中的變異型Fc

區較佳與原生序列Fc區及/或與親本多肽Fc區具有至少約80%同源性，且最佳與其具有至少約90%同源性，更佳與其具有至少約95%同源性。

「人類共同構架」為在選擇人類免疫球蛋白VL或VH構架序列時最常存在之胺基酸殘基之構架。一般而言，人類免疫球蛋白VL或VH序列係選自可變域序列之亞群。一般而言，序列亞群為如Kabat等人, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第五版, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), 第1-3卷中之亞群。在一個實施例中，對於VL而言，亞群為如Kabat等人(同上)中之亞群κ I。在一個實施例中，對於VH而言，亞群為如Kabat等人(同上)中之亞群III。

出於本文之目的，「受體人類構架」為包含來源於如下文所定義之人類免疫球蛋白構架或人類共同構架之輕鏈可變域(VL)構架或重鏈可變域(VH)構架之胺基酸序列的構架。「來源於」人類免疫球蛋白構架或人類共同構架之受體人類構架可包含其相同胺基酸序列，或其可含有胺基酸序列變化。在一些實施例中，胺基酸變化之數目為10個或10個以下、9個或9個以下、8個或8個以下、7個或7個以下、6個或6個以下、5個或5個以下、4個或4個以下、3個或3個以下、或2個或2個以下。在一些實施例中，VL受體人類構架序列與VL人類免疫球蛋白構架序列或人類共同構架在序列上一致。

「親和力」係指分子(例如抗體)之單一結合位點與其結合搭配物(例如抗原)之間的非共價相互作用力之總和。除非另外指明，否則如本文所用，「結合親和力」係指反映結合對(例如抗體與抗原)成員之間1:1相互作用的固有結合親和力。分子X對其搭配物Y之親和力一般可由解離常數(Kd)表示。可藉由此項技術中已知之常用方法(包括本文所述方法)量測親和力。用於量測結合親和力之特定說明性及例示

性實施例描述於下文中。

「親和力成熟」抗體係指相較於在一或多個高變區(HVR)中不具有一或多個變化之親本抗體，具有此類變化之抗體，此等變化使抗體對抗原之親和力得到改良。

「結合域」意謂化合物或分子中之特異性結合至標靶抗原決定基、抗原、配位體或受體的一部分。結合域包括(但不限於)抗體(例如單株、多株、重組、人類化及嵌合抗體)、抗體片段或其一部分(例如Fab片段、Fab'2、scFv抗體、SMIP、域抗體、雙功能抗體、微型抗體、scFv-Fc、親和抗體、奈米抗體，抗體之VH及/或VL域)、受體、配位體、適體，及具有經鑑別之結合搭配物的其他分子。

「效應功能」係指可歸因於抗體之Fc區之彼等生物活性，其因抗體同型而異。抗體效應功能之實例包括：C1q結合及補體依賴性細胞毒性(CDC)；Fc受體結合；抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)；吞噬作用；細胞表面受體(例如B細胞受體)之下調；及B細胞活化。

「免疫結合物」為與一或多個異質分子(包括(但不限於)細胞毒性劑)結合之抗體。

如本文所用，術語「細胞毒性劑」係指抑制或防止細胞功能及/或引起細胞死亡或破壞之物質。細胞毒性劑包括(但不限於)放射性同位素(例如At²¹¹、I¹³¹、I¹²⁵、Y⁹⁰、Re¹⁸⁶、Re¹⁸⁸、Sm¹⁵³、Bi²¹²、P³²、Pb²¹²及Lu之放射性同位素)；化學治療劑或藥物(例如甲胺喋呤(methotrexate)、阿德力黴素(adriamycin)、長春花生物鹼(長春新鹼(vincristine)、長春鹼(vinblastine)、依託泊苷(etoposide))、小紅莓(doxorubicin)、美法侖(melphalan)、絲裂黴素C (mitomycin C)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、道諾黴素(daunorubicin)或其他插入劑)；生長抑制劑；酶及其片段，諸如溶核酶；抗生素；毒素，諸如小分子毒素

或細菌、真菌、植物或動物來源之酶促活性毒素，包括其片段及/或變異體；以及以下所揭示之各種抗腫瘤或抗癌劑。

「分離」核酸係指已與其天然環境之組分分離的核酸分子。分離核酸包括通常含有核酸分子之細胞中所含的核酸分子，但該核酸分子存在於染色體外或存在於不同於其天然染色體位置之染色體位置。

「編碼抗CD79b抗體之經分離核酸」係指編碼抗體重鏈及輕鏈(或其片段)之一或多種核酸分子，包括單一載體或各別載體中之此類核酸分子及存在於宿主細胞中之一或多個位置處之此類核酸分子。

「編碼抗CD3抗體之經分離核酸」係指編碼抗體重鏈及輕鏈(或其片段)之一或多種核酸分子，包括單一載體或各別載體中之此類核酸分子，及存在於宿主細胞中之一或多個位置處之此類核酸分子。

如本文所用，術語「載體」係指一種核酸分子，其能夠傳送其所連接之另一核酸。該術語包括作為自我複製核酸結構之載體以及併入其已引入之宿主細胞之基因組中的載體。某些載體能夠引導其可操作地連接之核酸的表現。此類載體在本文中稱為「表現載體」。

術語「宿主細胞」、「宿主細胞株」及「宿主細胞培養物」可互換使用且係指已引入外源核酸之細胞，包括此類細胞之後代。宿主細胞包括「轉型體」及「轉型細胞」，其包括初級轉型細胞及來源於其之子代(不考慮繼代次數)。子代之核酸含量可與親本細胞不完全相同，而且可能含有突變。本文包括所篩選或選擇之與最初轉型細胞具有相同功能或生物活性的突變型後代。

相對於參考多肽序列之「胺基酸序列一致性百分比(%)」定義為，在比對序列且必要時引入空隙以達成序列一致性最大百分比之後，且在不將任何保守取代視為序列一致性之一部分的情況下，候選序列中之與參考多肽序列中之胺基酸殘基一致的胺基酸殘基百分比。用於測定胺基酸序列一致性百分比之目的的比對可以此項技術之技能

範圍內之多種方式達成，例如使用公開可獲得之電腦軟體，諸如 BLAST、BLAST-2、ALIGN、ALIGN或Megalign (DNASTAR)軟體。熟習此項技術者可確定適用於比對序列之參數，包括在所比較序列之全長內達成最大比對所需的任何算法。然而，出於本文之目的，使用序列比較電腦程式ALIGN-2產生胺基酸序列一致性%值。ALIGN-2序列比較電腦程式由Genentech, Inc.創作，且原始碼已隨使用者文件一起提交於美國版權局 (U.S. Copyright Office, Washington D.C., 20559)，其以美國版權登記號TXU510087登記。ALIGN-2程式可公開獲自Genentech, Inc., South San Francisco, California，或可自原始碼編寫。ALIGN-2程式經編寫可用於UNIX操作系統，包括數位UNIX V4.0D。所有序列比較參數由ALIGN-2程序設定且不變化。

在採用ALIGN-2進行胺基酸序列比較之情形下，指定胺基酸序列A相對於指定胺基酸序列B之胺基酸序列一致性% (或者，其可表述為與給定胺基酸序列B具有或包含一定胺基酸序列一致性%的給定胺基酸序列A)如下計算：

$$100 \times \text{分數 } X/Y$$

其中X為利用序列比對程式ALIGN-2在A與B之該程式比對時評為一致匹配的胺基酸殘基之數目，且其中Y為B中胺基酸殘基的總數。應瞭解，當胺基酸序列A之長度不等於胺基酸序列B之長度時，A相對於B之胺基酸序列一致性%將不等於B相對於A之胺基酸序列一致性%。除非另外特定說明，否則本文所用之所有胺基酸序列一致性%值均使用ALIGN-2電腦程式如剛剛前一段落中所述獲得。

術語「醫藥調配物」係指呈准許其中所含活性成分之生物活性有效之形式的製劑，且其不含對調配物將投與之個體具有不可接受毒性之其他組分。

「醫藥學上可接受之載劑」係指醫藥調配物中之除活性成分之

外對個體無毒的成分。醫藥學上可接受之載劑包括(但不限於)緩衝劑、賦形劑、穩定劑或防腐劑。

藥劑(例如醫藥調配物)之「有效量」係指在必需劑量及時間段下有效達成所需治療或防治結果之量。本文中之有效量可根據諸如以下因素而變化：患者之疾病病況、年齡、性別及體重，以及抗體引發個體發生所需反應之能力。有效量亦為治療有益作用超過治療之任何毒性或有害作用的量。對於防治性用途而言，有益或所要結果包括諸如以下之結果：消除或降低疾病之風險、減輕疾病之嚴重程度，或延緩疾病發作，疾病包括疾病、其併發症及在疾病發展期間所呈現之中間病理學表型之生物化學、組織學及/或行為症狀。對於治療用途而言，有益或所需結果包括諸如以下之臨床結果：減少由疾病引起之一或多種症狀、提高患病者之生活品質、降低治療疾病所需之其他藥物的劑量、增強另一藥劑之作用(諸如經由靶向)、延緩疾病演進及/或延長存活期。在癌症或腫瘤情況下，有效量之藥物可具有以下作用：降低癌細胞數目；降低腫瘤尺寸；抑制(亦即在一定程度上減緩或宜中止)癌細胞浸潤至周邊器官中；抑制(亦即在一定程度上減緩且宜中止)腫瘤轉移；在一定程度上抑制腫瘤生長；及/或在一定程度上緩解與病症相關之一或多種症狀。有效量可以一或多次投藥投與。出於本發明之目的，藥物、化合物或醫藥組合物之有效量為足以直接或間接實現預防性或治療性治療之量。如在臨床背景下所瞭解，藥物、化合物或醫藥組合物之有效量可或不可連同另一藥物、化合物或醫藥組合物一起達成。因此，在投與一或多種治療劑之情形下可考慮「有效劑量」，且若結合一或多種其他藥劑可達成或達成所要結果，則單一藥劑可視為以有效量給予。

如本文所用，「治療(treatment)」(及其文法變化形式，諸如「治療(treat)」或「治療(treating)」)係指試圖改變所治療個體之自然病程

的臨床介入且可出於防治目的或在臨床病理學之病程期間進行。所需治療作用包括(但不限於)預防疾病發生或復發、緩解症狀、減輕疾病之任何直接或間接病理性後果、預防轉移、降低疾病演進速率、改善或緩和疾病病況及緩解或改善預後。在一些實施例中，本發明之抗體用於延遲疾病發展或減慢疾病演進。

如本文所用，「延遲病症或疾病演進」意謂延緩、阻礙、減緩、阻滯、穩定及/或推遲疾病或病症(例如細胞增殖性病症，例如癌症)發展。此延遲可為不同時間長度，此視疾病病史及/或所治療的個體而定。如熟習此項技術者顯而易見，足夠或顯著延遲可實際上涵蓋預防，從而使個體不出現疾病。舉例而言，可延遲晚期癌症，諸如轉移發展。

「降低」或「抑制」意謂引起總體減少(例如20%或大於20%、50%或大於50%、或75%、85%、90%、95%或大於95%)的能力。在某些實施例中，降低或抑制可指由抗體Fc區介導之抗體效應功能，此類效應功能特別包括補體依賴性細胞毒性(CDC)、抗體依賴性細胞之細胞毒性(ADCC)及抗體依賴性細胞吞噬作用(ADCP)。

「化學治療劑」係指適用於治療癌症之化合物。化學治療劑之實例包括烷基化劑，諸如噻替派(thiotepa)及環磷醯胺(cyclophosphamide) (CYTOXAN®)；烷基磺酸鹽，諸如白消安(busulfan)、英丙舒凡(improsulfan)及哌泊舒凡(piposulfan)；氮丙啶，諸如苯唑多巴(benzodopa)、卡波醌(carboquone)、米特多巴(meturedopa)及尤利多巴(uredopa)；乙烯亞胺及甲基三聚氰胺，包括六甲蜜胺(altretamine)、三伸乙基三聚氰胺(triethylenemelamine)、三伸乙基磷醯胺(triethylenephosphoramidate)、三伸乙基硫代磷醯胺(triethylenethiophosphoramidate)及三羥甲基三聚氰胺；多聚乙醯(尤其布拉他辛(bullatacin)及布拉他辛酮(bullatacinone))； δ -9-四氫大麻酚

(屈大麻酚(dronabinol), MARINOL®); β -拉帕酮; 拉帕醇; 秋水仙鹼; 樺木酸; 喜樹鹼(包括合成模擬拓朴替康(topotecan)(HYCAMTIN®)、CPT-11(伊立替康(irinotecan, CAMPTOSAR®))、乙醯基喜樹鹼(acetylcamptothecin)、東莨菪素(scopolectin)及9-胺基喜樹鹼); 苔蘚蟲素(bryostatin); 海洋抑素(callystatin); CC-1065(包括其合成類似物阿多來新(adozelesin)、卡折來新(carzelesin)及比折來新(bizelesin)); 鬼臼毒素(podophyllotoxin); 鬼臼酸; 替尼泊甙(teniposide); 念珠藻環肽(cryptophycin)(尤其克瑞托欣(cryptophycin) 1及克瑞托欣8); 海兔毒素(dolastatin); 倍癌黴素(duocarmycin)(包括合成類似物KW-2189及CB1-TM1); 艾榴塞洛素(eleutherobin); 盤克斯塔叮(pancratistatin); 匍枝珊瑚醇(sarcodictyin); 海綿抑素(spongistatin); 氮芥, 諸如苯丁酸氮芥(chlorambucil)、萘氮芥(chlornaphazine)、氯磷醯胺(chlorophosphamide)、雌氮芥(estramustine)、異環磷醯胺(ifosfamide)、二氯甲基二乙胺(mechlorethamine)、二氯甲基二乙胺氧化物鹽酸鹽、美法侖(melphalan)、新恩比興(novembichin)、芬司特瑞(phenesterine)、潑尼氮芥(prednimustine)、曲磷胺(trofosfamide)、尿嘧啶氮芥(uracil mustard); 亞硝基脲, 諸如卡莫司汀(carmustine)、氯脲菌素(chlorozotocin)、福莫司汀(fotemustine)、洛莫司汀(lomustine)、尼莫司汀(nimustine)及雷莫司汀(ranimustine); 抗生素, 諸如烯二炔抗生素(例如卡奇黴素(calicheamicin), 尤其卡奇黴素 γ II及卡奇黴素 Ω II(參見例如Nicolaou等人, Angew. Chem Intl. Ed. Engl., 33: 183-186 (1994))); CDP323(一種口服 α -4整合素抑制劑); 達內黴素(dynemicin), 包括達內黴素A; 艾斯帕米辛(esperamicin); 以及新抑癌蛋白(neocarzinostatin)發色團及相關色蛋白烯二炔抗生素發色團)、阿克拉黴素(aclacinomysins)、放線菌素(actinomycin)、安黴黴

素(authramycin)、偶氮絲胺酸(azaserine)、博萊黴素(bleomycins)、放線菌素C(cactinomycin)、卡拉比辛(carabycin)、洋紅黴素(carminomycin)、嗜癌黴素(carzinophilin)、色黴素(chromomycinis)、放線菌素d(dactinomycin)、道諾黴素、地托比星(detorubicin)、6-重氮基-5-側氧基-L-正白胺酸、小紅莓(包括ADRIAMYCIN®、嗎啉基小紅莓、氰基嗎啉基小紅莓、2-吡咯啉基小紅莓、小紅莓HCl脂質體注射劑(DOXIL®)、脂質體小紅莓TLC D-99 (MYOCET®)、聚乙二醇化脂質體小紅莓(CAELYX®)及去氧小紅莓)、表柔比星(epirubicin)、依索比星(esorubicin)、伊達比星(idarubicin)、麻西羅黴素(marcellomycin)、絲裂黴素(mitomycins)(諸如絲裂黴素C)、黴酚酸(mycophenolic acid)、諾加黴素(nogalamycin)、橄欖黴素(olivomycins)、培洛黴素(peplomycin)、潑非黴素(potfiromycin)、嘌呤黴素(puromycin)、奎那黴素(quelamycin)、羅多比星(rodorubicin)、鏈黑菌素(streptonigrin)、鏈脲黴素(streptozocin)、殺結核菌素(tubercidin)、烏苯美司(ubenimex)、淨司他丁(zinostatin)、佐柔比星(zorubicin)；抗代謝物，諸如甲胺蝶呤及5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil)(5-FU)；葉酸類似物，諸如迪諾特寧(denopterin)、甲胺蝶呤、蝶羅呤(pteropterin)、曲美沙特(trimetrexate)；嘌呤類似物，諸如氟達拉濱(fludarabine)、6-巯基嘌呤(6-mercaptopurine)、硫米嘌呤(thiamiprine)、硫鳥嘌呤(thioguanine)；嘧啶類似物，諸如安西他濱(ancitabine)、阿紮胞苷(azacitidine)、6-氮尿苷(6-azauridine)、卡莫氟(carmofur)、阿糖胞苷(cytarabine)、雙去氧尿苷(dideoxyuridine)、去氧氟尿苷(doxifluridine)、依諾他濱(enocitabine)、氟尿苷(floxuridine)；雄激素，諸如卡魯甾酮(calusterone)、屈他雄酮丙酸酯(dromostanolone propionate)、環硫雄醇(epitiostanol)、美雄烷(mepitiostane)、甾內酯(testolactone)；抗腎上腺劑，諸如胺魯米特

(aminogluthethimide)、米托坦(mitotane)、曲洛司坦(trilostane)；葉酸補充劑，諸如亞葉酸(frolic acid)；乙醯葡醛酯(aceglatone)；醛磷醯胺糖苷(aldophosphamide glycoside)；胺基乙醯丙酸(aminolevulinic acid)；恩尿嘧啶(eniluracil)；安吡啶(amsacrine)；貝斯布西(bestrabucil)；比生群(bisantrene)；艾達曲克(edatraxate)；得弗伐胺(defofamine)；秋水仙胺(demecolcine)；地吡醯(diaziquone)；艾弗鳥胺酸(elfornithine)；依利醋銨(elliptinium acetate)；埃坡黴素(epothilone)；依託格魯(etoglucid)；硝酸鎂(gallium nitrate)；羥基脲(hydroxyurea)；蘑菇多醣(lentinan)；羅尼達寧(lonidainine)；美登素類(maytansinoids)，諸如美登素(maytansine)及胺沙托辛(ansamitocins)；丙脒脲(mitoguazone)；米托蒽醯(mitoxantrone)；莫比達摩(mopidanmol)；硝拉維林(nitraerine)；噴司他丁(pentostatin)；凡那明(phenamet)；吡柔比星(pirarubicin)；洛索蒽醯(losoxantrone)；2-乙基醯肼(2-ethylhydrazide)；丙卡巴肼(procarbazine)；PSK®多醣複合物(JHS Natural Products, Eugene, OR)；雷佐生(razoxane)；根黴菌素(rhizoxin)；西佐喃(sizofiran)；螺鍺(spirogermanium)；細交鏈孢菌酮酸(tenuazonic acid)；三亞胺醯(triaziquone)；2,2',2"-三氯三乙基胺；新月毒素(trichothecenes)(尤其T-2毒素、弗納庫林A(verracurin A)、桿孢菌素A(roridin A)及胺癸叮(anguidine))；烏拉坦(urethan)；長春地辛(vindesine)(ELDISINE®, FILDESIN®)；達卡巴嗪(dacarbazine)；甘露氮芥(mannomustine)；二溴甘露醇(mitobronitol)；二溴衛矛醇(mitolactol)；哌泊溴烷(pipobroman)；甲托辛(gacytosine)；阿糖胞苷(arabinoside)(「Ara-C」)；噻替派；紫杉醇(taxoids)，例如太平洋紫杉醇(TAXOL®)；經白蛋白工程改造之太平洋紫杉醇奈米粒子調配物(ABRAXANETM)及多西他賽(doxetaxel)(TAXOTERE®)；苯丁酸氮芥(chloranbucil)；6-硫鳥嘌呤(6-

thioguanine)；巯基嘌呤(mercaptopurine)；甲胺蝶呤；鉑藥劑，諸如順鉑(cisplatin)、奧沙利鉑(例如ELOXATIN®)及卡鉑(carboplatin)；防止微管蛋白聚合而形成微管的長春花，包括長春鹼(VELBAN®)、長春新鹼(ONCOVIN®)、長春地辛(vinblastine)(ELDISINE®、FILDESIN®)及長春瑞賓(NAVELBINE®)；依託泊苷(VP-16)；異環磷醯胺；米托蒽醌(mitoxantrone)；諾凡特龍(novantrone)；依達曲沙(edatrexate)；道諾黴素；胺基蝶呤；伊班膦酸鹽(ibandronate)；拓撲異構酶抑制劑RFS 2000；二氟甲基鳥胺酸(DMFO)；類視黃素，諸如視黃酸(retinoic acid)，包括貝瑟羅汀(TARGRETIN®)；雙膦酸鹽，諸如氯屈膦酸鹽(clodronate)(例如BONEFOS®或OSTAC®)、依替膦酸鹽(DIDROCAL®)、NE 58095、唑來膦酸/唑來膦酸鹽(zoledronic acid/zoledronate)(ZOMETA®)；阿侖膦酸鹽(alendronate)(FOSAMAX®)、帕米膦酸鹽(pamidronate)(AREDIA®)、替魯膦酸鹽(tiludronate)(SKELID®)或利塞膦酸鹽(risedronate)(ACTONEL®)；曲沙他濱(troxacitabine)(1,3-二氧雜環戊烷核苷胞嘧啶類似物)；反義寡核苷酸，尤其是抑制牽涉異常細胞增殖之信號傳導路徑中之基因表現的彼等物，，諸如PKC- α 、Raf、H-Ras，及表皮生長因子受體(EGF-R)；疫苗，諸如THERATOPE®疫苗及基因療法疫苗，例如ALLOVECTIN®疫苗、LEUVECTIN®疫苗及VAXID®疫苗；拓撲異構酶1抑制劑(例如LURTOTECAN®)；rmRH(例如ABARELIX®)；BAY439006(索拉非尼(sorafenib)；Bayer)；SU 11248(舒尼替尼(sunitinib), SUTENT®, Pfizer)；哌立福新(perifosine)，COX-2抑制劑(例如塞內昔布(celecoxib)或依他昔布(etoricoxib))、蛋白酶體抑制劑(例如PS341)；硼替佐米(bortezomib)(VELCADE®)；CCI-779；替吡法尼(tipifarnib)(R11577)；索拉非尼，ABT510；Bcl-2抑制劑，諸如奧利默森鈉(oblimersen sodium)(GENASENSE®)；匹蒽醌(pixantrone)；

EGFR抑制劑(參見下文定義)；酪胺酸激酶抑制劑；絲胺酸-蘇胺酸激酶抑制劑，諸如雷帕黴素(rapamycin)(西羅莫司(sirolimus), RAPAMUNE®)；法呢基轉移酶抑制劑，諸如洛那法尼(lonafarnib)(SCH 6636, SARASARTM)；及上述任一者之醫藥學上可接受之鹽、酸或衍生物；以及上述之兩者或兩者以上之組合，諸如CHOP (環磷醯胺、小紅莓、長春新鹼及潑尼龍之組合療法的縮寫)；及FOLFOX (奧沙利鉑(ELOXATINTM)與5-FU及甲醯四氫葉酸組合之治療方案的縮寫)。

如本文所定義之化學治療劑包括用來調節、減輕、阻斷或抑制可促進癌症生長之激素作用的「抗激素劑」或「內分泌治療劑」。其可為激素本身，包括(但不限於)：具有混合促效劑/拮抗劑概況之抗雌激素，包括他莫昔芬(tamoxifen)(NOLVADEX®)、4-羥基他莫昔芬、托瑞米芬(toremifene)(FARESTON®)、艾多昔芬(idoxifene)、曲洛昔芬(droloxifene)、雷諾昔酚(raloxifene)(EVISTA®)、曲沃昔芬(trioxifene)、雷洛昔芬(keoxifene)，及選擇性雌激素受體調節劑(SERM)(諸如SERM3)；不具有促效劑特性之純抗雌激素，諸如氟維司群(fulvestrant)(FASLODEX®)及EM800(此類藥劑可阻斷雌激素受體(ER)二聚、抑制DNA結合、增加ER轉換及/或抑制ER含量)；芳香酶抑制劑，包括類固醇芳香酶抑制劑，諸如福美司坦(formestane)及依西美坦(AROMASIN®)，及非類固醇芳香酶抑制劑，諸如阿那曲唑(anastrozole)(ARIMIDEX®)、來曲唑(letrozole)(FEMARA®)及胺魯米特(aminoglutethimide)，及其他芳香酶抑制劑，包括伏羅唑(vorozole)(RIVISOR®)、乙酸甲地孕酮(megestrol acetate)(MEGASE®)、法屈唑(fadrozole)及4(5)-咪唑；促黃體激素釋放激素促效劑，包括亮丙立德(leuprolide)(LUPRON®及ELIGARD®)、戈舍瑞林(goserelin)、布舍瑞林(buserelin)及曲特瑞林(tripterelin)；性類固醇，包括助孕素

(諸 如 乙 酸 甲 地 孕 酮 (megestrol acetate) 及 乙 酸 甲 羟 孕 酮 (medroxyprogesterone acetate))、雌 激 素 (諸 如 二 乙 基 己 烯 雌 酚 (diethylstilbestrol)及 普 雷 馬 林 (premarin))及 雄 激 素 /類 視 黃 素 (諸 如 氟 甲 睾 酮 (fluoxymesterone)、所 有 反 式 視 黃 酸 及 非 瑞 替 尼 (fenretinide))； 奧 那 司 酮 (onapristone)； 抗 孕 酮 ； 雌 激 素 受 體 下 調 劑 (ERD)； 抗 雄 激 素 ， 諸 如 氟 他 胺 (flutamide)、尼 魯 胺 (nilutamide) 及 比 卡 魯 胺 (bicalutamide)； 以 及 上 述 任 一 者 之 醫 藥 學 上 可 接 受 之 鹽 、 酸 或 衍 生 物 ； 以 及 上 述 兩 者 或 兩 者 以 上 的 組 合 。

如 本 文 針 對 佐 劑 療 法 所 用 ， 術 語 「 免 疫 抑 制 劑 」 係 指 用 來 抑 制 或 遮 蔽 本 文 中 所 治 療 之 哺 乳 動 物 之 免 疫 系 統 的 物 質 。 此 將 包 括 抑 制 細 胞 激 素 產 生 、 下 調 或 抑 制 自 身 抗 原 表 現 或 遮 蔽 MHC 抗 原 之 物 質 。 此 類 藥 劑 之 實 例 包 括 2-胺 基 -6-芳 基 -5-經 取 代 之 嘧 啶 (參 見 美 國 專 利 第 4,665,077 號)； 非 類 固 醇 消 炎 藥 (NSAID)； 更 昔 洛 韋 (ganciclovir)、他 克 莫 司 (tacrolimus)； 糖 皮 質 激 素 ， 諸 如 皮 質 醇 或 醛 固 酮 ； 消 炎 劑 ， 諸 如 環 加 氧 酶 抑 制 劑 、 5-脂 肪 加 氧 酶 抑 制 劑 或 白 三 烯 受 體 拮 抗 劑 ； 嘌 呤 拮 抗 劑 ， 諸 如 硫 唑 嘌 呤 (azathioprine) 或 黴 酚 酸 嗎 啉 乙 酯 (mycophenolate mofetil)(MMF)； 烷 基 化 劑 ， 諸 如 環 磷 醯 胺 、 溴 隱 定 (bromocryptine)； 達 那 唑 (danazol)； 達 普 松 (dapsone)； 戊 二 醛 (其 遮 蔽 MHC 抗 原 ， 如 美 國 專 利 第 4,120,649 號 中 所 述)； 針 對 MHC 抗 原 及 MHC 片 段 的 抗 個 體 基 因 型 抗 體 ； 環 孢 素 A ； 類 固 醇 ， 諸 如 皮 質 類 固 醇 或 糖 皮 質 類 固 醇 或 糖 皮 質 激 素 類 似 物 ， 例 如 潑 尼 松 (prednisone)、甲 基 潑 尼 龍 (methylprednisolone)(包 括 SOLU-MEDROL® 甲 基 潑 尼 龍 丁 二 酸 鈉) 及 地 塞 米 松 ； 二 氫 葉 酸 還 原 酶 抑 制 劑 ， 諸 如 甲 胺 喋 呤 (口 服 或 皮 下)； 抗 瘧 疾 藥 劑 ， 諸 如 氯 喹 (chloroquine)及 羟 氯 喹 (hydroxychloroquine)； 柳 氮 磺 胺 吡 啶 (sulfasalazine)； 來 氟 米 特 (leflunomide)； 細 胞 激 素 或 細 胞 激 素 受 體 抗 體 ， 包 括 抗 干 擾 素 - α 、 - β 或 - γ 抗 體 、 抗 腫 瘤 壞 死 因 子

(TNF)- α 抗體 (英利昔單抗 (infliximab)(REMICADE®) 或阿達木單抗 (adalimumab))、抗 TNF- α 免疫黏附素 (依那西普 (etanercept))、抗 TNF- β 抗體、抗介白素-2 (IL-2) 抗體及抗-IL-2 受體抗體，及抗介白素-6 (IL-6) 受體抗體及拮抗劑 (諸如 ACTEMRA™ (托西利單抗 (tocilizumab)))；抗 LFA-1 抗體，包括抗 CD11a 及抗 CD18 抗體；抗 L3T4 抗體；異質抗淋巴細胞球蛋白；泛-T 抗體，較佳為抗 CD3 或抗 CD4/CD4a 抗體；含有 LFA-3 結合域的可溶性肽 (7/26/90 公開的 WO 90/08187)；鏈激酶；轉型生長因子- β (TGF- β)；鏈球菌去氧核糖核酸酶；來自宿主的 RNA 或 DNA；FK506；RS-61443；苯丁酸氮芥 (chlorambucil)；去氧斯匹胍素 (deoxyspergualin)；雷帕黴素 (rapamycin)；T 細胞受體 (Cohen 等人，美國專利第 5,114,721 號)；T 細胞受體片段 (Offner 等人，*Science*, 251:430-432 (1991)；WO 90/11294；Ilaneway, *Nature*, 341:482 (1989)；及 WO 91/01133)；BAFF 拮抗劑，諸如 BAFF 抗體及 BR3 抗體及 zTNF4 拮抗劑 (欲回顧，參見 Mackay 及 Mackay, *Trends Immunol.*, 23:113-5 (2002) 且亦參見下文定義)；干擾 T 細胞輔助信號的生物藥劑，諸如抗 CD40 受體或抗 CD40 配位體 (CD154)，包括針對 CD40-CD40 配位體的阻斷抗體 (例如 Durie 等人，*Science*, 261:1328-30 (1993)；Mohan 等人，*J. Immunol.*, 154:1470-80 (1995)) 及 CTLA4-Ig (Finck 等人，*Science*, 265:1225-7 (1994))；及 T 細胞受體抗體 (EP 340,109)，諸如 T10B9。本文中之一些較佳免疫抑制劑包括環磷醯胺、苯丁酸氮芥、硫唑嘌呤、來氟米特、MMF 或甲胺喋呤。

術語「PD-1 軸結合拮抗劑」係指一種分子，其抑制 PD-1 軸結合搭配物與其一或多種結合搭配物之相互相用，以便移除由 PD-1 信號傳導軸上之信號傳導引起之 T 細胞功能障礙，結果為恢復或增強 T 細胞功能 (例如增殖、細胞激素產生、靶細胞殺死)。如本文所使用，PD-1 軸結合拮抗劑包括 PD-1 結合拮抗劑、PD-L1 結合拮抗劑及 PD-L2 結合

拮抗劑。

術語「PD-1結合拮抗劑」係指一種分子，其減少、阻斷、抑制、消除或干擾由PD-1與一或多種其結合搭配物(諸如PD-L1、PD-L2)之相互作用引起之信號轉導。在一些實施例中，PD-1結合拮抗劑為抑制PD-1與一或多種其結合搭配物結合的分子。在一個特定態樣中，PD-1結合拮抗劑抑制PD-1結合至PD-L1及/或PD-L2。舉例而言，PD-1結合拮抗劑包括減少、阻斷、抑制、消除或干擾由PD-1與PD-L1及/或PD-L2之相互作用引起之信號轉導的抗PD-1抗體、其抗原結合片段、免疫黏附素、融合蛋白、寡肽及其他分子。在一個實施例中，PD-1結合拮抗劑減少由或經由表現於T淋巴細胞上之細胞表面蛋白質介導之負向共刺激信號，以便降低功能異常T細胞之功能異常程度(例如增強對抗原識別之效應子反應)，該等T淋巴細胞經由PD-1介導信號轉導。在一些實施例中，PD-1結合拮抗劑為抗PD-1抗體。在一個特定態樣中，PD-1結合拮抗劑為本文所述之MDX-1106 (尼沃單抗(nivolumab))。在另一個特定態樣中，PD-1結合拮抗劑為本文所述之MK-3475 (拉立珠單抗(lambrolizumab))。在另一個特定態樣中，PD-1結合拮抗劑為本文所述之CT-011 (皮立珠單抗(pidilizumab))。在另一個特定態樣中，PD-1結合拮抗劑為本文所述之AMP-224。

術語「PD-L1結合拮抗劑」係指一種分子，其減少、阻斷、抑制、消除或干擾由PD-L1與其任一種或多種結合搭配物(諸如PD-1、B7-1)之相互作用引起的信號轉導。在一些實施例中，PD-L1結合拮抗劑為抑制PD-L1與其結合搭配物之結合的分子。在一個特定態樣中，PD-L1結合拮抗劑抑制PD-L1結合至PD-1及/或B7-1。在一些實施例中，PD-L1結合拮抗劑包括減少、阻斷、抑制、消除或干擾由PD-L1與其一或多種結合搭配物(諸如PD-1、B7-1)之相互作用引起之信號轉導的抗PD-L1抗體、其抗原結合片段、免疫黏附素、融合蛋白、寡肽

及其他分子。在一個實施例中，PD-L1結合拮抗劑降低由或經由表現於經由PD-L1介導信號傳導之T淋巴細胞上之細胞表面蛋白質所介導之負共刺激信號，以便降低該功能異常T細胞之功能異常程度(例如增強對抗原識別之效應反應)。在一些實施例中，PD-L1結合拮抗劑為抗PD-L1抗體。在一個特定態樣中，抗PD-L1抗體為本文所述之YW243.55.S70。在另一個特定態樣中，抗PD-L1抗體為本文所述之MDX-1105。在另一個特定態樣中，抗PD-L1抗體為本文所述之MPDL3280A。在另一個特定態樣中，抗PD-L1抗體為本文所述之MEDI4736。

術語「PD-L2結合拮抗劑」係指一種分子，其減少、阻斷、抑制、消除或干擾由PD-L2與其任一種或多種結合搭配物(諸如PD-1)之相互相用引起的信號轉導。在一些實施例中，PD-L2結合拮抗劑為抑制PD-L2結合至其一或多種結合搭配物的分子。在一個特定態樣中，PD-L2結合拮抗劑抑制PD-L2結合至PD-1。在一些實施例中，PD-L2拮抗劑包括減少、阻斷、抑制、消除或干擾由PD-L2與其一或多種結合搭配物(諸如PD-1)之相互相用引起之信號轉導的抗PD-L2抗體、其抗原結合片段、免疫黏附素、融合蛋白、寡肽及其他分子。在一個實施例中，PD-L2結合拮抗劑降低由或經由表現於經由PD-L2介導信號傳導之T淋巴細胞上之細胞表面蛋白質介導之負共刺激信號，以便降低該功能異常T細胞之功能異常程度(例如增強對抗原識別之效應反應)。在一些實施例中，PD-L2結合拮抗劑為免疫黏附素。

術語「腫瘤」係指所有贅生性細胞生長及增殖，無論惡性或良性，及所有癌前及癌性細胞及組織。術語「癌症」、「癌性」、「細胞增殖性病症」、「增殖性病症」及「腫瘤」不為互相排斥的，如本文中所提及。

術語「細胞增殖性病症」及「增殖性病症」係指與某種程度的

異常細胞增殖相關之病症。在一個實施例中，細胞增殖性病症為癌症。

術語「癌症」及「癌性」係指或描述哺乳動物中通常以細胞生長/增殖失調為特徵之生理病狀。癌症之實例包括(但不限於)癌瘤、淋巴瘤(例如霍奇金氏淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma)及非霍奇金氏淋巴瘤)、母細胞瘤、肉瘤及白血病。

術語「B細胞增殖性病症」係指與某種程度之異常B細胞增殖相關的病症。在一個實施例中，B細胞增殖性病症為癌症。

「B細胞增殖性病症」包括霍奇金氏病，包括淋巴細胞為主型霍奇金氏疾病(LPHD)；非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)；濾泡性中心細胞(FCC)淋巴瘤；急性淋巴細胞性白血病(ALL)；慢性淋巴球性白血病(CLL)；及毛細胞白血病。非霍奇金氏淋巴瘤包括低級/濾泡性非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、小淋巴細胞性(SL) NHL、中級/濾泡性NHL、中級瀰漫性NHL、高級免疫母細胞NHL、高級淋巴母細胞性NHL、高級小非分裂細胞NHL、大腫塊疾病NHL、漿細胞樣淋巴細胞性淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、AIDS相關淋巴瘤及瓦爾登斯特倫氏巨球蛋白血症(Waldenstrom's macroglobulinemia)。亦涵蓋此等癌症復發之療法。LPHD為傾向於經常復發的霍奇金氏疾病類型，不論輻射或化學療法治療。CLL為四種主要白血病類型之一。成熟B細胞(稱為淋巴細胞)癌症(CLL)的表現為細胞在血液、骨髓及淋巴組織中之漸進性積累。惰性淋巴瘤為緩慢生長的不可治癒疾病，其中患者在多個週期的緩解及復發之後存活的平均時間為6年與10年之間。

如本文所用，術語「非霍奇金氏淋巴瘤」或「NHL」係指除霍奇金氏淋巴瘤之外的淋巴系統癌症。霍奇金氏淋巴瘤有別於非霍奇金氏淋巴瘤之處通常可為霍奇金氏淋巴瘤中存在里德-斯德伯格氏細胞(Reed-Sternberg cells)且非霍奇金氏淋巴瘤中不存在該等細胞。如本

文所用之該術語所涵蓋之非霍奇金氏淋巴瘤實例包括本身由熟習此項技術者(例如腫瘤學家或病理學家)根據此項技術中已知之分類方案鑑別之任何非霍奇金氏淋巴瘤，分類方案諸如如以下文獻中所述的經修訂之 European-American Lymphoma (REAL) 方案：Color Atlas of Clinical Hematology 第3版；A. Victor Hoffbrand 及 John E. Pettit (編)(Harcourt Publishers Limited 2000)(特別參見圖11.57、11.58及/或11.59)。更特定實例包括(但不限於)復發性或難治性NHL、前線低級NHL、III/IV期NHL、抗化學療法NHL、前驅B淋巴母細胞白血病及/或淋巴瘤、小淋巴細胞性淋巴瘤、B細胞慢性淋巴細胞性白血病及/或前淋巴細胞性白血病及/或小淋巴細胞性淋巴瘤、B細胞前淋巴細胞性淋巴瘤、免疫細胞瘤及/或淋巴漿細胞淋巴瘤、邊緣區B細胞淋巴瘤、脾邊緣區淋巴瘤、結外邊緣區-MALT淋巴瘤、結內邊緣區淋巴瘤、毛細胞白血病、漿細胞瘤及/或漿細胞骨髓瘤、低級/濾泡性淋巴瘤、中級/濾泡性NHL、套細胞淋巴瘤、濾泡中心淋巴瘤(濾泡性)、中級瀰漫性NHL、瀰漫性大B細胞淋巴瘤、侵襲性NHL (包括侵襲性前線NHL及侵襲性復發NHL)、自體幹細胞移植之後復發或難治的NHL、原發縱隔大B細胞淋巴瘤、原發滲出性淋巴瘤、高級免疫母細胞NHL、高級淋巴母細胞性NHL、高級小非分裂細胞NHL、大腫塊疾病NHL、伯基特氏淋巴瘤(Burkitt's lymphoma)、前驅(周邊) T細胞淋巴母細胞白血病及/或淋巴瘤、成人T細胞淋巴瘤及/或白血病、T細胞慢性淋巴球性白血病及/或前淋巴細胞性白血病、大顆粒淋巴細胞性白血病、蕁樣真菌病及/或塞紮萊症候群(Sezary syndrome)、結外天然殺手/T細胞(鼻型)淋巴瘤、腸病型T細胞淋巴瘤、肝脾T細胞淋巴瘤、皮下脂層炎樣T細胞淋巴瘤、皮膚淋巴瘤、多形性大細胞淋巴瘤、血管中心性淋巴瘤、腸T細胞淋巴瘤、周邊T細胞(未另列出)淋巴瘤及血管免疫母細胞T細胞淋巴瘤。

「個體(individual)」或「個體(subject)」為哺乳動物。哺乳動物包括(但不限於)家養動物(例如牛、綿羊、貓、狗及馬)、靈長類動物(例如人類及非人類靈長類動物，諸如猴)、家兔及啮齒動物(例如小鼠及大鼠)。在某些實施例中，個體(individual)或個體(subject)為人類。

術語「藥品說明書」用於指通常包括於治療性產品之商業包裝中之說明書，其含有關於與使用該等治療性產品有關之適應症、用法、劑量、投與、組合療法、禁忌及/或警告之資訊。

除非上下文另外明確指示，否則如本文中及所附申請專利範圍中所使用，單數形式「一(a/an)」及「該」包括複數個指示物。

本文中提及「約」包括(且描述)針對該值或參數本身之變化。舉例而言，提及「約X」之描述包括「X」之描述。

應瞭解，本文所述之本發明態樣及變化形式包括「由態樣及變化形式組成」及/或「主要由態樣及變化形式組成」。

II. 組合物及方法

在一個態樣中，本發明部分地基於抗CD79b抗體。在某些實施例中，提供包含CD79b結合域及CD3結合域的抗CD79b抗體。在某些實施例中，抗CD79b抗體為抗CD79b T細胞依賴性雙特異性(TDB)抗體。本發明抗體適用於例如診斷或治療B細胞增殖性疾病。

A. 例示性抗CD79b抗體

在一個態樣中，本發明提供結合至CD79b之分離抗體。在任一種抗CD79b抗體的一些實施例中，CD79b結合域結合至SEQ ID NO: 63。

在任一種抗CD79b抗體的一些實施例中，抗CD79b抗體(例如CD79b結合域)以雙臂二價IgG抗體形式、以小於約25 nM之Kd結合人類CD79b。在任一種抗CD79b抗體的一些實施例中，抗CD79b抗體(例如CD79b結合域)係以小於約10 nM之Kd結合人類CD79b。在任一種抗CD79b抗體的一些實施例中，抗CD79b抗體(例如CD79b結合域)以小

於約5 nM之Kd結合人類CD79b。在一些實施例中，藉由本文所述之任何方法，尤其實例所述之任何方法測定Kd。在一些實施例中，Kd係藉由BIAcore測定。在一些實施例中，Kd係由以低密度固著的CD79b來測定。

在任一種抗CD79b抗體之一些實施例中，抗CD79b抗體(例如CD79b結合域)以雙臂二價IgG抗體形式、以小於約150 ng/mL之EC₅₀結合B細胞(例如BJAB細胞)。在一些實施例中，EC₅₀小於約100 ng/mL。在一些實施例中，EC₅₀小於約75 ng/mL。在一些實施例中，EC₅₀小於約50 ng/mL。在一些實施例中，藉由本文所述之任何方法，尤其實例所述之任何方法測定EC₅₀。在一些實施例中，EC₅₀為約任何5或10次實驗之平均值。在一些實施例中，藉由FACS測定與B細胞的結合。

在任一種抗CD79b抗體之一些實施例中，抗CD79b抗體(例如CD79b結合域)以單價形式(例如包含CD79b及CD3結合域的抗CD79b雙特異性抗體)、以小於約1.5 ug/mL之EC₅₀結合人類CD79b、結合B細胞(例如BJAB細胞) 在一些實施例中，EC₅₀小於約1 ug/mL。在一些實施例中，EC₅₀小於約0.75 ug/mL。在一些實施例中，EC₅₀小於約0.5 ug/mL。在一些實施例中，EC₅₀小於約0.25 ug/mL。在一些實施例中，藉由本文所述之任何方法，尤其實例所述之任何方法測定EC₅₀。在一些實施例中，EC₅₀為約任何5或10次實驗之平均值。在一些實施例中，藉由FACS測定與B細胞的結合。

抗體CD79.A7及其變異體

在一個態樣中，本發明提供包含CD79b結合域的抗CD79b抗體，該CD79b結合域包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下的HVR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 5之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 10之HVR-L1；(e)包含胺

基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L3。在一些實施例中，HVR-H1包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3。在一些實施例中，HVR-H1包含胺基酸序列SEQ ID NO: 4。在一些實施例中，HVR-H2包含胺基酸序列SEQ ID NO: 6。在一些實施例中，HVR-H2包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7。

在一個態樣中，本發明提供包含CD79b結合域的抗CD79b抗體，該CD79b結合域包含至少一個、至少兩個或所有三個選自以下的VH HVR序列：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 5之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之HVR-H2；及(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3。在一個實施例中，抗體包含含有胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3。在另一個實施例中，抗體包含含有胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3及含有胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L3。在另一個實施例中，抗體包含含有胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3、含有胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L3及含有胺基酸序列SEQ ID NO: 8之HVR-H2。在另一個實施例中，抗體包含(a)含有胺基酸序列SEQ ID NO: 5之HVR-H1；(b)含有胺基酸序列SEQ ID NO: 8之HVR-H2；及(c)含有胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3。在一些實施例中，HVR-H1包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3。在一些實施例中，HVR-H1包含胺基酸序列SEQ ID NO: 4。在一些實施例中，HVR-H2包含胺基酸序列SEQ ID NO: 6。在一些實施例中，HVR-H2包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7。在另一個實施例中，抗體包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 6之HVR-H2；及(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3。在另一個實施例中，抗體包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 4之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之HVR-H2；及(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3。

在另一態樣中，本發明提供包含CD79b結合域的抗CD79b抗體，

該CD79b結合域包含至少一個、至少兩個或所有三個選自以下的VL HVR序列：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 10之HVR-L1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L2；及(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L3。在一個實施例中，抗體包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 10之HVR-L1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L2；及(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L3。

在另一態樣中，本發明之抗CD79b抗體包含CD79b結合域，該CD79b結合域包含(a) VH域，該VH域包含至少一個、至少兩個或所有三個選自以下的VH HVR序列：(i)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 5之HVR-H1；(ii)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之HVR-H2，及(iii)包含選自SEQ ID NO: 9之胺基酸序列的HVR-H3；及(b) VL域，該VL域包含至少一個、至少兩個或所有三個選自以下的VL HVR序列：(i)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 10之HVR-L1；(ii)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L2，及(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L3。在一些實施例中，HVR-H1包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3。在一些實施例中，HVR-H1包含胺基酸序列SEQ ID NO: 4。在一些實施例中，HVR-H2包含胺基酸序列SEQ ID NO: 6。在一些實施例中，HVR-H2包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7。

在另一態樣中，本發明提供包含CD79b結合域的抗CD79b抗體，該CD79b結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 5之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 10之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L2；及(f)包含選自SEQ ID NO: 12之胺基酸序列的HVR-L3。在另一態樣中，本發明提供包含CD79b結合域的抗CD79b抗體，該CD79b結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 6之HVR-H2；

(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 10之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L2；及(f)包含選自SEQ ID NO: 12之胺基酸序列的HVR-L3。在另一態樣中，本發明提供包含CD79b結合域的抗CD79b抗體，該CD79b結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 4之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 10之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L2；及(f)包含選自SEQ ID NO: 12之胺基酸序列的HVR-L3。

在任一上述實施例中，抗CD79b抗體為人類化的。在一個實施例中，抗CD79b抗體包含如任一上述實施例中之HVR且進一步包含受體人類構架，例如人類免疫球蛋白構架或人類共同構架。

在另一態樣中，抗CD79b抗體包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 15、17、19、21、23、25、27及/或29具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性的重鏈可變域(VH)序列。在某些實施例中，具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性的VH序列相對於參考序列含有取代(例如保守性取代)、插入或缺失，但包含該序列之抗CD79b抗體保持結合至CD79b的能力。在某些實施例中，在SEQ ID NO: 15、17、19、21、23、25、27及/或29中，總共1至10個胺基酸已經取代、插入及/或缺失。在某些實施例中，取代、插入或缺失發生在HVR外部之區域中(亦即在FR中)。視情況，抗CD79b抗體包含位於SEQ ID NO: 15、17、19、21、23、25、27及/或29中之VH序列，包括該序列之轉譯後修飾。在一個特定實施例中，VH包含選自以下之一個、兩個或三個HVR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 5之HVR-H1、(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之HVR-H2及(c)包含胺基酸序列

SEQ ID NO: 9之HVR-H3。

在另一態樣中，提供抗CD79b抗體，其中該抗體包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 16、18、20、22、24、26、28及/或30具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性的輕鏈可變域(VL)。在某些實施例中，具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性的VL序列相對於參考序列含有取代(例如保守性取代)、插入或缺失，但包含該序列之抗CD79b抗體保持結合至CD79b的能力。在某些實施例中，在SEQ ID NO: 16、18、20、22、24、26、28及/或30中，總共1至10個胺基酸已經取代、插入及/或缺失。在某些實施例中，取代、插入或缺失發生在HVR外部區域中(亦即在FR中)。視情況，抗CD79b抗體包含位於SEQ ID NO: 16、18、20、22、24、26、28及/或30中的VL序列，包括該序列之轉譯後修飾。在一個特定實施例中，VL包含選自以下之一個、兩個或三個HVR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 10之HVR-L1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L2；及(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L3。

在另一態樣中，提供抗CD79b抗體，其中該抗體包含如上文所提供之任何實施例中之VH及如上文所提供之任何實施例中之VL。在一個實施例中，抗體包含分別位於SEQ ID NO: 15及SEQ ID NO: 16中之VH及VL序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，抗體分別包含SEQ ID NO: 17及SEQ ID NO: 18中之VH及VL序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，抗體包含分別位於SEQ ID NO: 19及SEQ ID NO: 20中之VH及VL序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，抗體包含分別位於SEQ ID NO: 21及SEQ ID NO: 22中之VH及VL序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，抗體包含分別位於SEQ ID NO: 23及SEQ ID NO: 24中之VH及

VL序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，抗體包含分別位於SEQ ID NO: 25及SEQ ID NO: 26中之VH及VL序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，抗體包含分別位於SEQ ID NO: 27及SEQ ID NO: 28中之VH及VL序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，抗體包含分別位於SEQ ID NO: 29及SEQ ID NO: 30中之VH及VL序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。

在另一態樣中，本發明提供一種與本文所提供之抗CD79b抗體結合至相同抗原決定基的抗體。舉例而言，在某些實施例中，提供與包含SEQ ID NO: 19之VH序列及SEQ ID NO: 20之VL序列的抗CD79b抗體結合至相同抗原決定基的抗體。在某些實施例中，提供結合至CD79b之片段內之抗原決定基的抗體，該片段由SEQ ID NO: 63之胺基酸組成。

在本發明之另一態樣中，根據任一上述實施例之抗CD79b抗體為單株抗體，包括嵌合抗體、人類化抗體或人類抗體。在一個實施例中，抗CD79b抗體為抗體片段，例如Fv、Fab、Fab'、scFv、雙功能抗體或F(ab')₂片段。在另一個實施例中，抗體為全長抗體，例如完整IgG1抗體或如本文所定義之其他抗體類別或同型。

抗體SN8.新及其變異體

在一個態樣中，本發明提包含CD79b結合域的抗CD79b抗體，該CD79b結合域包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下的HVR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 31之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 32之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 33之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 34之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 35之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 36之HVR-L3。

在一個態樣中，本發明提供包含CD79b結合域的抗CD79b抗體，

該CD79b結合域包含至少一個、至少兩個或所有三個選自以下的VH HVR序列：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 31之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 32之HVR-H2；及(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 33之HVR-H3。在一個實施例中，抗體包含含有胺基酸序列SEQ ID NO: 33之HVR-H3。在另一個實施例中，抗體包含含有胺基酸序列SEQ ID NO: 33之HVR-H3及含有胺基酸序列SEQ ID NO: 36之HVR-L3。在另一個實施例中，抗體包含含有胺基酸序列SEQ ID NO: 33之HVR-H3、含有胺基酸序列SEQ ID NO: 36之HVR-L3，及含有胺基酸序列SEQ ID NO: 32之HVR-H2。在另一個實施例中，抗體包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 31之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 32之HVR-H2；及(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 33之HVR-H3。

在另一態樣中，本發明提供包含CD79b結合域的抗CD79b抗體，該CD79b結合域包含至少一個、至少兩個或所有三個選自以下的VL HVR序列：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 34之HVR-L1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 35之HVR-L2；及(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 36之HVR-L3。在一個實施例中，抗體包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 34之HVR-L1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 35之HVR-L2；及(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 36之HVR-L3。

在另一態樣中，本發明之抗CD79b抗體包含CD79b結合域，該CD79b結合域包含(a) VH域，該VH域包含至少一個、至少兩個或所有三個選自以下的VH HVR序列：(i)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 31之HVR-H1；(ii)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 32之HVR-H2，及(iii)包含選自SEQ ID NO: 33之胺基酸序列的HVR-H3；及(b) VL域，該VL域包含至少一個、至少兩個或所有三個選自以下的VL HVR序列：(i)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 34之HVR-L1；(ii)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 35之HVR-L2，及(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 36之HVR-L3。

在另一態樣中，本發明提供包含CD79b結合域的抗CD79b抗體，該CD79b結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 31之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 32之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 33之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 34之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 35之HVR-L2；及(f)包含選自SEQ ID NO: 36之胺基酸序列的HVR-L3。

在任一上述實施例中，抗CD79b抗體為人類化的。在一個實施例中，抗CD79b抗體包含如任一上述實施例中之HVR且進一步包含受體人類構架，例如人類免疫球蛋白構架或人類共同構架。

在另一態樣中，抗CD79b抗體包含與SEQ ID NO: 37之胺基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性的重鏈可變域(VH)序列。在某些實施例中，具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性的VH序列相對於參考序列含有取代(例如保守性取代)、插入或缺失，但包含該序列之抗CD79b抗體保持結合至CD79b的能力。在某些實施例中，SEQ ID NO: 37中總共1至10個胺基酸已經取代、插入及/或缺失。在某些實施例中，取代、插入或缺失發生在HVR外部之區域中(亦即在FR中)。視情況，抗CD79b抗體包含位於SEQ ID NO: 37中之VH序列，包括該序列之轉譯後修飾。在一個特定實施例中，VH包含選自以下之一個、兩個或三個HVR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 31之HVR-H1、(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 32之HVR-H2及(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 33之HVR-H3。

在另一態樣中，提供抗CD79b抗體，其中該抗體包含與胺基酸序列SEQ ID NO: 38具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性的輕鏈可變域(VL)。在某些實施例中，具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、

97%、98%或99%一致性的VL序列相對於參考序列含有取代(例如保守性取代)、插入或缺失，但包含該序列之抗CD79b抗體保持結合至CD79b的能力。在某些實施例中，SEQ ID NO: 38中總共1至10個胺基酸已經取代、插入及/或缺失。在某些實施例中，取代、插入或缺失發生在HVR外部區域中(亦即在FR中)。視情況，抗CD79b抗體包含位於SEQ ID NO: 38中之VL序列，包括該序列之轉譯後修飾。在一個特定實施例中，VL包含選自以下之一個、兩個或三個HVR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 34之HVR-L1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 35之HVR-L2；及(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 36之HVR-L3。

在另一態樣中，提供抗CD79b抗體，其中該抗體包含如上文所提供之任何實施例中之VH及如上文所提供之任何實施例中之VL。在一個實施例中，抗體包含分別位於SEQ ID NO: 37及SEQ ID NO: 38中之VH及VL序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。

在本發明之另一態樣中，根據任一上述實施例之抗CD79b抗體為單株抗體，包括嵌合抗體、人類化抗體或人類抗體。在一個實施例中，抗CD79b抗體為抗體片段，例如Fv、Fab、Fab'、scFv、雙功能抗體或F(ab')₂片段。在另一個實施例中，抗體為全長抗體，例如完整IgG1抗體或如本文所定義之其他抗體類別或同型。

在另一態樣中，根據任一上述實施例之抗CD79b抗體可合併如下文章節1至7中所述之任一種特徵(單一或組合)。

1. 抗體親和力

在某些實施例中，本文所提供之抗體具有 $\leq 1 \mu\text{M}$ 、 $\leq 100 \text{ nM}$ 、 $\leq 10 \text{ nM}$ 、 $\leq 1 \text{ nM}$ 、 $\leq 0.1 \text{ nM}$ 、 $\leq 0.01 \text{ nM}$ 或 $\leq 0.001 \text{ nM}$ (例如 10^{-8} M 或 10^{-8} M 以下，例如 10^{-8} M 至 10^{-13} M ，例如 10^{-9} M 至 10^{-13} M)之解離常數(Kd)。

在一個實施例中，藉由放射性標記抗原結合分析(RIA)量測Kd。在一個實施例中，用相關抗體之Fab型式及其抗原進行RIA。舉例而

言，Fab針對抗原之溶液結合親和力如下量測：在滴定系列之未標記抗原存在下、用最小濃度之經(^{125}I)標記之抗原平衡Fab，接著用經抗Fab抗體塗覆之盤(參見例如Chen等人, *J. Mol. Biol.* 293:865-881 (1999))捕捉所結合之抗原。為建立分析條件，將MICROTITER®多孔盤(Thermo Scientific)用50 mM碳酸鈉(pH 9.6)中之5 $\mu\text{g/ml}$ 捕捉抗Fab抗體(Cappel Labs)塗覆隔夜，且隨後在室溫(約23°C)下用PBS中之2% (w/v)牛血清白蛋白阻斷2至5小時。在無吸附劑板(Nunc #269620)中，將100 pM或26 pM [^{125}I]抗原與相關Fab (例如符合抗VEGF抗體Fab-12之評估，Presta等人, *Cancer Res.* 57:4593-4599 (1997))之連續稀釋液混合。接著將相關Fab培育隔夜；然而，培育可持續較長時間段(例如約65小時)以保證達到平衡。隨後，在室溫下將混合物轉移至捕捉盤中培育(例如持續一個小時)。接著移除溶液且用含0.1%聚山梨醇酯20 (TWEEN-20®)之PBS洗盤八次。將盤乾燥時，添加每孔150 μl 閃爍體(MICROSCINT-20™ ; Packard)，且盤在TOPCOUNT™ γ 計數器(Packard)上計數10分鐘。選擇提供小於或等於20%最大結合之各Fab的濃度用於競爭性結合分析。

根據另一實施例，使用BIACORE®表面電漿子共振分析量測Kd。舉例而言，使用BIACORE®-2000或BIACORE®-3000 (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ)的分析係在25°C用固著抗原CM5晶片以約10個反應單位(RU)進行。在一個實施例中，根據供應商之說明書，用N-乙基-N'-(3-二甲胺基丙基)-碳化二亞胺鹽酸鹽(EDC)及N-羥基丁二醯亞胺(NHS)來活化羧甲基化聚葡萄糖生物感測晶片(CM5, BIAcore, Inc.)。用10 mM乙酸鈉(pH 4.8)將抗原稀釋至5 $\mu\text{g/ml}$ (約0.2 μM)，隨後以5微升/分鐘之流動速率注射以使得偶合蛋白質達成約10個反應單位(RU)。注射抗原後，注射1 M乙醇胺以阻斷未反應之基團。關於動力學量測，在25°C下，以約25 $\mu\text{l/min}$ 之流動速率注射Fab於含0.05%聚

山梨醇酯20 (TWEEN-20TM)界面活性劑之PBS (PBST)中之兩倍連續稀釋液(0.78 nM至500 nM)。使用簡單的一比一朗格繆爾結合模型(one-to-one Langmuir binding model)(BIAcore[®]評估軟體3.2版)，藉由同時擬合結合及解離感測圖譜來計算結合速率(kon)及解離速率(koff)。平衡解離常數(Kd)係以比率koff/kon來計算。參見例如Chen等人, *J. Mol. Biol.* 293:865-881 (1999)。若藉由上述表面電漿子共振分析測定之結合速率超過 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ，則結合速率可使用螢光淬滅技術量測，該技術係量測PBS (pH 7.2)中之20 nM抗抗原抗體(Fab形式)在濃度增加之抗原存在下、在25°C之螢光發射強度(激發=295 nm；發射=340 nm，16 nm帶通)之增加或減少，如在光譜儀(諸如具有攪拌式光析槽之止流裝備型分光光度計(Aviv Instruments)或8000系列SLM-AMINCOTM分光光度計(ThermoSpectronic))中所量測。

2. 抗體片段

在某些實施例中，本文所提供之抗體為抗體片段。抗體片段包括(但不限於) Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、Fv及scFv片段，及下文所描述之其他片段。欲回顧某些抗體片段，參見Hudson等人, *Nat. Med.* 9:129-134 (2003)。欲回顧scFv片段，參見例如Pluckthün, 於*The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, 第113卷, Rosenberg及Moore編, (Springer-Verlag, New York), 第269-315頁(1994)；亦參見WO 93/16185；及美國專利第5,571,894號及第5,587,458號。關於包含救助受體結合抗原決定基殘基及具有延長之活體內半衰期之Fab及F(ab')₂片段的論述，參見美國專利第5,869,046號。

雙功能抗體為其中兩個抗原結合位點可為二價或雙特異性之抗體片段。參見例如EP 404,097；WO 1993/01161；Hudson等人, *Nat. Med.* 9:129-134 (2003)；及Hollinger等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 6444-6448 (1993)。三功能抗體及四功能抗體亦描述於等人, *Nat.*

Med. 9:129-134 (2003)中。

單域抗體為包含抗體之重鏈可變域全部或一部分或輕鏈可變域全部或一部分的抗體片段。在某些實施例中，單域抗體為人類單域抗體(Domantis, Inc., Waltham, MA；參見例如美國專利第6,248,516號)。

抗體片段可藉由各種技術製得，包括(但不限於)完整抗體之蛋白分解消化以及藉由重組型宿主細胞(例如大腸桿菌或噬菌體)產生，如本文中所述。

3. 嵌合及人類化抗體

在某些實施例中，本文所提供之抗體為嵌合抗體。某些嵌合抗體描述於例如美國專利第4,816,567號；及Morrison等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855 (1984))。在一個實例中，嵌合抗體包含非人類可變區(例如來源於小鼠、大鼠、倉鼠、兔或非人類靈長類動物(諸如猴)之可變區)及人類恆定區。在另一實例中，嵌合抗體為「類別轉換」抗體，其中類別或子類別已自親本抗體之類別或子類別改變。嵌合抗體包括其抗原結合片段。

在某些實施例中，嵌合抗體為人類化抗體。通常，對非人類抗體進行人類化以降低對人類之免疫原性，同時保留親本非人類抗體之特異性及親和力。一般而言，人類化抗體包含一或多個可變域，其中HVR (例如CDR (或其一部分))來源於非人類抗體，且FR (或其一部分)來源於人類抗體序列。人類化抗體視情況亦包含人類恆定區之至少一部分。在一些實施例中，人類化抗體中之一些FR殘基經來自非人類抗體(例如HVR殘基所來源之抗體)之相應殘基取代，以例如恢復或提高抗體特異性或親和力。

人類化抗體及其製備方法回顧於例如Almagro及Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)中，且進一步描述於例如Riechmann等人, *Nature* 332:323-329 (1988)；Queen等人, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA*

86:10029-10033 (1989)；美國專利第5,821,337號、第7,527,791號、第6,982,321號及第7,087,409號；Kashmiri等人, *Methods* 36:25-34 (2005)(描述特異性決定區(SDR)移植)；Padlan, *Mol. Immunol.* 28:489-498 (1991)(描述「表面再塑」)；Dall'Acqua等人, *Methods* 36:43-60 (2005)(描述「FR改組」)；及Osbourn等人, *Methods* 36:61-68 (2005)及Klimka等人, *Br. J. Cancer*, 83:252-260 (2000)(描述FR改組之「引導選擇」方法)。

可用於人類化之人類構架區包括(但不限於)：使用「最佳擬合(best-fit)」法選擇之構架區(參見例如Sims等人, *J. Immunol.* 151:2296 (1993))；來源於具有輕鏈或重鏈可變區之特定亞群之人類抗體的共同序列之構架區(參見例如Carter等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992)；及Presta等人, *J. Immunol.*, 151:2623 (1993))；人類成熟(體細胞突變)構架區或人類生殖系構架區(參見例如Almagro及Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008))；及來源於篩選FR文庫之構架區(參見例如Baca等人, *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684 (1997)及Rosok等人, *J. Biol. Chem.* 271:22611-22618 (1996))。

4. 人類抗體

在某些實施例中，本文所提供之抗體為人類抗體。可使用此項技術中已知之各種技術來產生人類抗體。人類抗體大體描述於van Dijk及van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5: 368-74 (2001)以及Lonberg, *Curr. Opin. Immunol.* 20:450-459 (2008)中。

人類抗體可藉由將免疫原投與已經修飾以回應於抗原攻擊而產生完整人類抗體或具有人類可變區之完整抗體的轉殖基因動物來製備。此類動物典型地含有人類免疫球蛋白基因座的全部或一部分，其置換內源性免疫球蛋白基因座，或存在於染色體外或隨機整合至動物染色體中。在此類轉殖基因小鼠中，內源性免疫球蛋白基因座一般已

不活化。欲回顧自轉殖基因動物獲得人類抗體之方法，參見Lonberg, *Nat. Biotech.* 23:1117-1125 (2005)。亦參見例如描述XENOMOUSE™技術的美國專利第6,075,181號及第6,150,584號；描述HUMAB®技術的美國專利第5,770,429號；描述K-M MOUSE®技術的美國專利第7,041,870號；及描述VELOCIMOUSE®技術的美國專利申請公開案第US 2007/0061900號。由此類動物產生之完整抗體之人類可變區可進一步加以修飾，例如藉由與不同人類恆定區組合。

人類抗體亦可藉由基於融合瘤之方法製備。用於產生人類單株抗體之人類骨髓瘤及小鼠-人類融合骨髓瘤細胞株已有描述。(參見例如Kozbor *J. Immunol.*, 133: 3001 (1984)；Brodeur等人, *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, 第51-63頁(Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)；及Boerner等人, *J. Immunol.*, 147: 86 (1991))。經由人類B細胞融合瘤技術產生的人類抗體亦描述於Li等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006)中。其他方法包括例如美國專利第7,189,826號(描述自融合瘤細胞株產生單株人類IgM抗體)及Ni, *Xiandai Mianyixue* 26(4):265-268 (2006)(描述人類-人類融合瘤)中所述之彼等方法。人類融合瘤技術(三源融合瘤技術(Trioma technology))亦描述於 Vollmers 及 Brandlein, *Histology and Histopathology*, 20(3):927-937 (2005) 以及 Vollmers 及 Brandlein, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 27(3):185-91 (2005)中。

人類抗體亦可藉由分離選自人源噬菌體呈現文庫之Fv純系可變域序列產生。此類可變域序列接著可與所需人類恆定域組合。下文描述用於自抗體文庫選擇人類抗體之技術。

5. 文庫源抗體

本發明之抗體可藉由針對具有所需活性之抗體篩選組合文庫來

分離。舉例而言，此項技術中已知多種方法用於產生噬菌體呈現文庫及針對具有所需結合特徵之抗體篩選此類文庫。此類方法回顧於例如 Hoogenboom等人，於*Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien等人編，Human Press, Totowa, NJ, 2001)且進一步描述於例如 McCafferty等人，*Nature* 348:552-554；Clackson等人，*Nature* 352: 624-628 (1991)；Marks等人，*J. Mol. Biol.* 222: 581-597 (1992)；Marks及Bradbury，於*Methods in Molecular Biology* 248:161-175 (Lo編，Human Press, Totowa, NJ, 2003)；Sidhu等人，*J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310 (2004)；Lee等人，*J. Mol. Biol.* 340(5): 1073-1093 (2004)；Fellouse，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34): 12467-12472 (2004)；及Lee等人，*J. Immunol. Methods* 284(1-2): 119-132(2004)。

在某些噬菌體呈現方法中，VH及VL基因之譜系分別藉由聚合酶鏈反應(PCR)選殖且在噬菌體庫中隨機重組，接著可如Winter等人，*Ann. Rev. Immunol.* 12:433-455 (1994)中所述，針對抗原結合噬菌體進行篩選。噬菌體典型地呈現呈單鏈Fv (scFv)片段或Fab片段形式的抗體片段。來自免疫來源之文庫提供抗免疫原之高親和力抗體而無需構築融合瘤。或者，可選殖原始譜系(例如來自人類)以提供針對廣泛範圍之非自體抗原以及自體抗原之單一抗體來源而無需任何免疫接種，如Griffiths等人，*EMBO J.* 12: 725-734 (1993)所述。最後，原始文庫亦可以合成方式如下製備：自幹細胞選殖未重排V基因區段，且使用含有隨機序列以編碼高度可變CDR3區及實現活體外重排之PCR引子，如Hoogenboom及Winter，*J. Mol. Biol.*, 227: 381-388 (1992)所述。描述人類抗體噬菌體文庫之專利公開案包括例如：美國專利第5,750,373號及美國專利公開案第2005/0079574號、第2005/0119455號、第2005/0266000號、第2007/0117126號、第2007/0160598號、第2007/0237764號、第2007/0292936號及第2009/0002360號。

自人類抗體文庫分離之抗體或抗體片段在本文中視為人類抗體或人類抗體片段。

6. 多特異性抗體

在某些實施例中，本文所提供之抗體為多特異性抗體，例如雙特異性抗體。多特異性抗體為針對至少兩個不同位點具有結合特異性之單株抗體。在某些實施例中，結合特異性之一係針對CD79b且另一者係針對任何其他抗原。在某些實施例中，雙特異性抗體可結合至CD79b之兩個不同抗原決定基。雙特異性抗體亦可用於使細胞毒性劑定位於表現CD79b之細胞上。雙特異性抗體可以全長抗體或抗體片段形式製備。

在一個態樣中，本發明提供結合至CD79b及CD3之經分離抗CD79b抗體(亦即包含CD79b結合域及CD3結合域)。在某些實施例中，結合特異性之一係針對CD3 (例如CD3 ϵ 或CD3 γ)且另一者係針對CD79b。在一些實施例中，CD3結合域結合至人類CD3多肽或食蟹獼猴(cyno) CD3多肽。在一些實施例中，人類CD3多肽或食蟹獼猴CD3多肽分別為人類CD3 ϵ 多肽或食蟹獼猴CD3 ϵ 多肽。在一些實施例中，人類CD3多肽或食蟹獼猴CD3多肽分別為人類CD3 γ 多肽或食蟹獼猴CD3 γ 多肽。在某些實施例中，提供包含CD3結合域的抗CD79b抗體，該CD3結合域結合至CD3 (例如人類CD3 ϵ)片段內的抗原決定基，該抗原決定基係由人類CD3 ϵ 之胺基酸1-26或1-27組成。在一些實施例中，抗CD79b抗體為雙特異性抗體。在一些實施例中，抗CD79b抗體為雙特異性IgG抗體。

在一些實施例中，CD3結合域係以250 nM或低於250 nM之Kd結合人類CD3 ϵ 多肽。在一些實施例中，CD3結合域係以100 nM或低於100 nM之Kd結合人類CD3 ϵ 多肽。在一些實施例中，CD3結合域係以15 nM或低於15 nM之Kd結合人類CD3 ϵ 多肽。在一些實施例中，CD3

結合域係以10 nM或低於10 nM之Kd結合人類CD3 ϵ 多肽。在一些實施例中，CD3結合域係以5 nM或低於5 nM之Kd結合人類CD3 ϵ 多肽。

在任一種多特異性抗體的一些實施例中，例如結合至CD79b及CD3之雙特異性抗體包含CD3結合域，其中該CD3結合域包含高變區(HVR)：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 39之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 40之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 41之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 42之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 43之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 44之HVR-L3。在一些實施例中，CD3結合域包含(a) VH域，其包含(i)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 39的HVR-H1；(ii)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 40的HVR-H2及(iii)包含選自SEQ ID NO: 41之胺基酸序列的HVR-H3；及(b) VL域，其包含(i)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 42的HVR-L1；(ii)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 43的HVR-L2及(iii)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 44的HVR-L3。在一些情況下，CD3結合域可具有胺基酸序列與SEQ ID NO: 57之序列至少90%序列一致(例如至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致)或包括SEQ ID NO: 57之序列的重鏈可變(VH)域，及/或胺基酸序列與SEQ ID NO: 58之序列至少90%序列一致(例如至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致)或包含SEQ ID NO: 58之序列的輕鏈可變(VL)域。在一些情況下，CD3結合域可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 57之VH域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 58之VL域。在一個特定情況中，CD3結合域可為40G5c，或其衍生物或純系相關物。

舉例而言，在一些實施例中，抗CD79b抗體包含(i)包含如下HVR之CD79b結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 4之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID

NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 10之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L3，以及(ii)包含如下HVR之CD3結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 39之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 40之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 41之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 42之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 43之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 44之HVR-L3。在一些實施例中，抗CD79b抗體包含(i)CD79b結合域，該CD79b結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 19之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 20之VL域；以及(ii)CD3結合域，該CD3結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 57之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 58之VL域。

在結合至CD79b及CD3之任一種多特異性抗體(例如雙特異性抗體)的一些實施例中，CD3結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 45之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 46之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 47之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 48之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 49之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 50之HVR-L3。在一些實施例中，CD3結合域包含(a) VH域，其包含(i)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 45的HVR-H1；(ii)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 46的HVR-H2及(iii)包含選自SEQ ID NO: 47之胺基酸序列的HVR-H3；及(b) VL域，其包含(i)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 48的HVR-L1；(ii)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 49的HVR-L2及(iii)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 50的HVR-L3。在一些情況下，CD3結合域可具有胺基酸序列與SEQ ID NO: 59之序列至少90%序列一致(例如至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致)或包含SEQ ID NO: 59之序列的VH域，及/

或胺基酸序列與SEQ ID NO: 60之序列至少90%序列一致(例如至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致)或包含SEQ ID NO: 60之序列的VL域。在一些情況下，CD3結合域可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 59之VH域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 60之VL域。在一個特定情況中，CD3結合域可為38E4v1，或其衍生物或純系相關物。

舉例而言，在一些實施例中，抗CD79b抗體包含(i)包含如下HVR之CD79b結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 4之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 10之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L3，以及(ii)包含如下HVR之CD3結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 45之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 46之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 47之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 48之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 49之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 50之HVR-L3。在一些實施例中，抗CD79b抗體包含(i)CD79b結合域，該CD79b結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 19之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 20之VL域；以及(ii)CD3結合域，該CD3結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 59之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 60之VL域。

在結合至CD79b及CD3之任一種多特異性抗體(例如雙特異性抗體)的一些實施例中，CD3結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 51之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 52之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 53之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 54之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 55之HVR-L2；及

(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 56之HVR-L3。在一些實施例中，CD3結合域包含(a) VH域，其包含(i)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 51的HVR-H1；(ii)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 52的HVR-H2及(iii)包含選自SEQ ID NO: 53之胺基酸序列的HVR-H3；及(b) VL域，其包含(i)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 54的HVR-L1；(ii)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 55的HVR-L2及(iii)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 56的HVR-L3。在一些情況下，抗CD3抗體可具有胺基酸序列與SEQ ID NO: 61之序列至少90%序列一致(例如至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致)或包含SEQ ID NO: 61之序列的VH域，及/或胺基酸序列與SEQ ID NO: 62之序列至少90%序列一致(例如至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致)或包含SEQ ID NO: 62之序列的VL域。在一些情況下，CD3結合域可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 61之VH域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 62之VL域。在一個特定情況中，抗CD3抗體可為UCHT1.v9，或其衍生物或純系相關物。

舉例而言，在一些實施例中，抗CD79b抗體包含(i)包含如下HVR之CD79b結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 4之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 10之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L3，以及(ii)包含如下HVR之CD3結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 51之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 52之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 53之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 54之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 55之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 56之HVR-L3。在一些實施例中，抗CD79b抗體包含(i) CD79b結合域，該CD79b

結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 19之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 20之VL域；以及(ii) CD3結合域，該CD3結合域包含(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 61之VH域及(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 62之VL域。

在任一種多特異性抗CD79b抗體的一些實施例中，抗CD79b抗體具有小於約100 ng/mL之B細胞殺死EC₅₀。在一些實施例中，EC₅₀小於約50 ng/mL。在一些實施例中，EC₅₀小於約25 ng/mL。在一些實施例中，EC₅₀小於約20 ng/mL。在一些實施例中，EC₅₀小於約15 ng/mL。在一些實施例中，B細胞殺死為內源性B細胞殺死。在一些實施例中，B細胞殺死為細胞株B細胞殺死，例如BJAB細胞株、WSU-CLCL2細胞株、OCI-Ly-19細胞株。在一些實施例中，藉由本文所述之任何方法，尤其實例所述之任何方法測定EC₅₀。在一些實施例中，EC₅₀為約任何5或10次實驗之平均值。在一些實施例中，EC₅₀為約任何5或10個供者之平均值。

在任一種多特異性抗CD79b抗體的一些實施例中，抗CD79b抗體在5000 ng/mL下殺死至少約60% B細胞。在一些實施例中，抗CD79b抗體在5000 ng/mL下殺死至少約80% B細胞。抗CD79b抗體在5000 ng/mL下殺死至少約90% B細胞。舉例而言，在一些實施例中，B細胞為B細胞株SU-CHL-6、CoHH2、BJAB、WSU-DLCL2、Sc-1、SU-CHL-8、GRANTA-519、Nalm-6、Ramos及/或OCI-Ly-19中之一或多者。在一些實施例中，藉由本文所述之任何方法，尤其實例所述之任何方法測定EC₅₀。在一些實施例中，EC₅₀為約任何5或10次實驗之平均值。在一些實施例中，EC₅₀為約任何5或10個供者之平均值。

在任一種多特異性抗CD79b抗體的一些實施例中，抗CD79b抗體的細胞毒性T細胞活化EC₅₀為小於約50 ng/mL中的任一者。在一些實施例中，抗CD79b抗體的細胞毒性T細胞活化EC₅₀小於約25 ng/mL。

在一些實施例中，抗CD79b抗體的細胞毒性T細胞活化 EC_{50} 小於約20 ng/mL以下。在一些實施例中，細胞毒性T細胞活化係根據CD8⁺ T細胞中之CD69+CD25⁺ T細胞百分比來度量。在一些實施例中，藉由本文所述之任何方法，尤其實例所述之任何方法測定 EC_{50} 。在一些實施例中， EC_{50} 為約任何5或10次實驗之平均值。在一些實施例中， EC_{50} 為約任何5或10個供者之平均值。

用於製備多特異性抗體的技術包括(但不限於)具有不同特異性之兩個免疫球蛋白重鏈-輕鏈對的重組共表現(參見Milstein及Cuello, *Nature* 305: 537 (1983))；WO 93/08829及Traunecker等人, *EMBO J.* 10: 3655 (1991))，及「臼包杵」工程改造(參見例如美國專利第5,731,168號)。多特異性抗體亦可如下製備：用於製備抗體Fc-雜二聚分子之工程化靜電導向效應(WO 2009/089004A1)；使兩種或兩種以上抗體或片段交聯(參見例如美國專利第4,676,980號及Brennan等人, *Science*, 229: 81 (1985))；使用白胺酸拉鏈產生雙特異性抗體(參見例如Kostelny等人, *J. Immunol.*, 148(5):1547-1553 (1992))；使用用於製備雙特異性抗體片段之「雙功能抗體」技術(參見例如Hollinger等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:6444-6448 (1993))；及使用單鏈Fv (sFv)二聚體(參見例如Gruber等人, *J. Immunol.*, 152:5368 (1994))；及如例如Tutt等人, *J. Immunol.* 147: 60 (1991)中所述製備三特異性抗體。

本文中亦包括具有三個或三個以上功能性抗原結合位點之工程改造抗體，包括「章魚抗體 (Octopus antibodies)」(參見例如US 2006/0025576A1)。

本文之抗體或片段亦包括包含結合至CD79b以及另一種不同抗原之抗原結合位點的「雙作用 FAb」或「DAF」(參見例如US 2008/0069820)。

7. 抗體變異體

在某些實施例中，涵蓋本文所提供之抗體之胺基酸序列變異體。舉例而言，可能需要提高抗體之結合親和力及/或其他生物特性。抗體之胺基酸序列變異體可藉由將適當修飾引入編碼該抗體之核苷酸序列中或藉由肽合成製備。此類修飾包括例如發生於抗體胺基酸序列內的殘基缺失及/或插入及/或取代。可進行缺失、插入及取代之任何組合以獲得最終構築體，其限制條件為最終構築體具有所需特徵，例如抗原結合。

a) 取代、插入及缺失變異體

在某些實施例中，提供具有一或多個胺基酸取代之抗體變異體。用於取代型突變誘發之相關位點包括HVR及FR。保守性取代顯示於表1中「較佳取代」標題下。更多實質性變化提供於表1中「例示性取代」標題下，且如下文參考胺基酸側鏈類別進一步描述。胺基酸取代可引入相關抗體中且根據所要活性(例如保持/改良之抗原結合、降低之免疫原性或改良之ADCC或CDC)篩選產物。

表1

原始殘基	例示性取代	較佳取代
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 正白胺酸	Leu
Leu (L)	正白胺酸; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser

原始殘基	例示性取代	較佳取代
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 正白胺酸	Leu

胺基酸可根據共同側鏈特性進行分組：

- (1)疏水性：正白胺酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile；
- (2)中性親水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；
- (3)酸性：Asp、Glu；
- (4)鹼性：His、Lys、Arg；
- (5)影響鏈取向之殘基：Gly、Pro；
- (6)芳族：Trp、Tyr、Phe。

非保守取代將需要將此等類別中之一者之成員換成另一類別。

一種類型之取代型變異體涉及取代親本抗體(例如人類化抗體或人類抗體)之一或多個高變區殘基。一般而言，選用於進一步研究之所得變異體相對於親本抗體將在某些生物特性方面具有修飾(例如改良)(例如親和力提高、免疫原性降低)及/或將實質上保持親本抗體之某些生物特性。例示性取代型變異體為親和力成熟抗體，其宜使用例如基於噬菌體呈現之親和力成熟技術(諸如本文所述之彼等技術)來產生。簡言之，使一或多個HVR殘基發生突變，且在噬菌體上呈現變異型抗體且根據特定生物活性(例如結合親和力)進行篩選。

改變(例如取代)可發生於HVR中以例如改良抗體親和力。此類改變可發生於HVR「熱點」(亦即由在體細胞成熟過程中經歷高頻率突變之密碼子所編碼之殘基(參見例如Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008))，及/或接觸抗原之殘基)中，其中測試所得變異型VH或VL之結合親和力。藉由構築二級文庫及自二級文庫再選擇來達成親和力成熟已描述於Hoogenboom等人之*Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien等人編, Human Press, Totowa, NJ, (2001))。

在親和力成熟之一些實施例中，藉由多種方法(例如易錯PCR、鏈改組或寡核苷酸定向突變誘發)中之任一種將多樣性引入選用於成熟之可變基因中。接著產生二級文庫。接著篩選文庫以鑑別具有所要親和力之任何抗體變異體。引入多樣性之另一方法包括HVR定向方法，其中若干個HVR殘基(例如，一次4-6個殘基)隨機進行。涉及抗原結合之HVR殘基可特定鑑別，例如使用丙胺酸掃描突變誘發或模型化來鑑別。特定言之，往往以CDR-H3及CDR-L3為目標。

在某些實施例中，取代、插入或缺失可發生在一或多個HVR內，只要此等改變不實質上降低抗體結合抗原之能力即可。舉例而言，HVR中可發生實質上不降低結合親和力之保守性改變(例如如本文所提供之保守性取代)。此類改變例如可發生於HVR中之抗原接觸殘基外部。在上文所提供之變異型VH及VL序列之某些實施例中，各HVR未改變或含有不超過一個、兩個或三個胺基酸取代。

一種適用於鑑別突變誘發可靶向之抗體殘基或區域的方法稱為「丙胺酸掃描突變誘發」，如Cunningham及Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085所述。在此方法中，鑑別殘基或一組標靶殘基(例如帶電荷殘基，諸如Arg、Asp、His、Lys及Glu)且置換為中性或帶負電荷胺基酸(例如丙胺酸或聚丙胺酸)以判定抗體與抗原之相互作用是否受到影響。可在對初始取代顯示功能敏感性之胺基酸位置引入其他取代。或者或另外，利用抗原-抗體複合物之晶體結構來鑑別抗體與抗原之間的接觸點。此類接觸殘基及鄰近殘基可作為取代候選物之目標或排除在取代候選物之外。可篩選變異體以判定其是否含有所需特性。

胺基酸序列插入包括在一個殘基至含有一百個或一百個以上殘基之多肽長度範圍內的胺基及/或羧基末端融合物，以及具有單個或多個胺基酸殘基之序列內插入。末端插入之實例包括具有N末端甲硫

胺醯基殘基之抗體。抗體分子之其他插入變異體包括抗體之N末端或C末端與酶(例如對於ADEPT而言)或延長抗體之血清半衰期之多肽的融合物。

b) 糖基化變異體

在某些實施例中，對本文所提供之抗體進行改變以增加或降低抗體糖基化之程度。在抗體上添加糖基化位點或使抗體缺失糖基化位點宜藉由改變胺基酸序列以便產生或移除一或多個糖基化位點來實現。

在抗體包含Fc區之情況下，可改變與其連接之碳水化合物。由哺乳動物細胞產生之天然抗體通常包含分支鏈雙觸角寡醣，其一般藉由N鍵連接至Fc區之CH2域的Asn297。參見例如Wright等人, *TIBTECH* 15:26-32 (1997)。寡醣可包括各種碳水化合物，例如甘露糖、N-乙醯基葡萄糖胺(GlcNAc)、半乳糖及唾液酸，以及連接至雙觸寡醣結構之「主幹」中之GlcNAc的海藻糖。在一些實施例中，可對本發明抗體中之寡醣進行修飾以便形成具有某些改良特性之抗體變異體。

在一個實施例中，提供具有缺乏連接(直接或間接)至Fc區之海藻糖之碳水化合物結構的抗體變異體。舉例而言，此類抗體中之海藻糖含量可為1%至80%、1%至65%、5%至65%，或20%至40%。海藻糖之量係藉由計算糖鏈內Asn297處之海藻糖之平均量來確定，此平均量係相對於如MALDI-TOF質譜法所量測之連接至Asn 297之所有醣結構(例如複合、雜交及高甘露糖結構)的總和而言，如例如WO 2008/077546中所述。Asn297係指位於Fc區中約位置297之天冬醯胺殘基(Fc區殘基之Eu編號)；然而，歸因於抗體中之微小序列變化，Asn297亦可位於位置297之上游或下游約 ± 3 個胺基酸處，亦即位置294與300之間。此類海藻糖基化變異體可具有改良之ADCC功能。參見例如美國專利公開案第US 2003/0157108號(Presta, L.)；第US 2004/0093621號(Kyowa

Hakko Kogyo Co., Ltd)。關於「去海藻糖基化」或「缺乏海藻糖」抗體變異體之公開案之實例包括：US 2003/0157108；WO 2000/61739；WO 2001/29246；US 2003/0115614；US 2002/0164328；US 2004/0093621；US 2004/0132140；US 2004/0110704；US 2004/0110282；US 2004/0109865；WO 2003/085119；WO 2003/084570；WO 2005/035586；WO 2005/035778；WO2005/053742；WO2002/031140；Okazaki等人, *J. Mol. Biol.* 336:1239-1249 (2004)；Yamane-Ohnuki等人, *Biotech. Bioeng.* 87:614 (2004)。能夠產生去海藻糖基化抗體之細胞株之實例包括缺乏蛋白質海藻糖基化之Lec13 CHO細胞(Ripka等人, *Arch. Biochem. Biophys.* 249:533-545 (1986)；美國專利申請案第US 2003/0157108 A1號，Presta, L；以及WO 2004/056312 A1，Adams等人，尤其實例11)，及基因剔除細胞株，諸如 α -1,6-海藻糖基轉移酶基因、*FUT8*、基因剔除CHO細胞(參見例如Yamane-Ohnuki等人, *Biotech. Bioeng.* 87:614 (2004)；Kanda, Y.等人, *Biotechnol. Bioeng.*, 94(4):680-688 (2006)；以及WO2003/085107)。

進一步提供其中寡醣被二分的抗體變異體，例如其中連接至抗體Fc區的雙觸角寡醣被GlcNAc二分。此類抗體變異體可具有減少之海藻糖基化及/或改良之ADCC功能。此類抗體變異體之實例描述於例如WO 2003/011878 (Jean-Mairet等人)；美國專利第6,602,684號 (Umana等人)；以及US 2005/0123546 (Umana等人)。亦提供寡醣中之至少一個半乳糖殘基連接至Fc區的抗體變異體。此類抗體變異體可具有改善之CDC功能。此類抗體變異體描述於例如WO 1997/30087 (Patel等人)；WO 1998/58964 (Raju, S.)；及WO 1999/22764 (Raju, S.)。

c) Fc區變異體

在某些實施例中，可將一或多個胺基酸修飾引入本文所提供之

抗體之Fc區中，從而產生Fc區變異體。Fc區變異體可包含人類Fc區序列(例如人類IgG1、IgG2、IgG3或IgG4 Fc區)，其在一或多個胺基酸位置處包含胺基酸修飾(例如取代)。

在某些實施例中，本發明涵蓋具有一些而非所有效應功能之抗體變異體，此使得該抗體成為合乎應用需要之候選物，在該等應用中，活體內抗體半衰期至關重要，而某些效應功能(諸如補體及ADCC)為不必要或有害的。可進行活體外及/或活體內細胞毒性分析以確認CDC及/或ADCC活性之降低/耗乏。舉例而言，可進行Fc受體(FcR)結合分析以確保抗體不具有Fc γ R結合能力(從而可能缺乏ADCC活性)，但保留FcRn結合能力。用於介導ADCC之初級細胞NK細胞僅表現Fc(RIII，而單核細胞表現Fc(RI、Fc(RII及Fc(RIII。FcR在造血細胞上之表現概述於Ravetch及Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492 (1991)之第464頁之表3中。評估相關分子之ADCC活性之活體外分析的非限制性實例描述於美國專利第5,500,362號(參見例如Hellstrom, I.等人, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 83:7059-7063 (1986))及Hellstrom, I等人, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 82:1499-1502 (1985)；5,821,337 (參見Bruggemann, M.等人, *J. Exp. Med.* 166:1351-1361 (1987))。或者，可採用非放射性分析方法(參見例如用於流式細胞術之ACTI™非放射性細胞毒性分析(CellTechnology, Inc. Mountain View, CA)；及CytoTox 96®非放射性細胞毒性分析(Promega, Madison, WI)。適用於此類分析之效應細胞包括周邊血液單核細胞(PBMC)及天然殺手(NK)細胞。或者或另外，可在活體內(例如在動物模型中，諸如Clynes等人, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95:652-656 (1998)中所揭示者)評估相關分子的ADCC活性。亦可進行C1q結合分析以確認抗體不能結合C1q且因此缺乏CDC活性。參見例如WO 2006/029879及WO 2005/100402中之C1q及C3c結合ELISA。為評估補體活化，可進行CDC分析(參見例如

Gazzano-Santoro等人, *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996) ; Cragg, M.S.等人, *Blood* 101:1045-1052 (2003) ; 及Cragg, M.S.及M.J. Glennie, *Blood* 103:2738-2743 (2004))。亦可使用此項技術中已知之方法(參見例如Petkova, S.B.等人, *Int. Immunol.* 18(12):1759-1769 (2006))測定FcRn結合及活體內清除/半衰期。

效應功能降低之抗體包括Fc區殘基238、265、269、270、297、327及329中之一或多者發生取代之抗體(美國專利第6,737,056號)。此類Fc突變體包括胺基酸位置265、269、270、297及327中之兩者或兩者以上發生取代的Fc突變體，包括殘基265及297被取代成為丙胺酸的所謂「DANA」Fc突變體(美國專利第7,332,581號)。

在一些態樣中，抗CD79b抗體(例如抗CD79b TDB抗體)包含含有N297G突變的Fc區。

在一些實施例中，包含N297G突變的抗CD79b抗體包含一或多個重鏈恆定域，其中該一或多個重鏈恆定域係選自第一CH1 (CH₁)域、第一CH2 (CH₂)域、第一CH3 (CH₃)域、第二CH1 (CH₁)域、第二CH2 (CH₂)域及第二CH3 (CH₃)域。在一些情況下，一或多個重鏈恆定域中的至少一者與另一重鏈恆定域配對。在一些情況下，CH₃₁及CH₃₂域各包含隆凸或空腔，且其中CH₃₁域內之隆凸或空腔可分別定位於CH₃₂域之空腔或隆凸內。在一些情況下，CH₃₁與CH₃₂域在該隆凸與空腔之間的界面相遇。在一些情況下，CH₂₁及CH₂₂域各包含隆凸或空腔，且其中CH₂₁域內之隆凸或空腔可分別定位於CH₂₂域之空腔或隆凸內。在其他個例中，CH₂₁與CH₂₂域在該隆凸與空腔之間的界面相遇。在一些情況下，抗CD3抗體為IgG1抗體。

描述具有提高或降低之與FcR之結合的某些抗體變異體。(參見例如美國專利第6,737,056號；WO 2004/056312，及Shields等人, *J. Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604 (2001))。

在某些實施例中，抗體變異體包含Fc區，其具有改良ADCC的一或多個胺基酸取代，例如Fc區之位置298、333及/或334（殘基之EU編號）的取代。

在一些實施例中，改變發生於Fc區中，導致C1q結合及/或補體依賴性細胞毒性(CDC)改變(亦即改良或減弱)，例如如以下文獻中所述：美國專利第6,194,551號、第WO 99/51642號及Idusogie等人, *J. Immunol.* 164:4178-4184 (2000)。

半衰期延長且與負責將母體IgG轉移至胎兒之新生兒Fc受體(FcRn)(Guyer等人, *J. Immunol.* 117:587 (1976)及Kim等人, *J. Immunol.* 24:249 (1994))之結合改良的抗體描述於US 2005/0014934A1 (Hinton等人)中。彼等抗體包含具有一或多個取代之Fc區，該等取代改良Fc區與FcRn的結合。此類Fc變異體包括以下Fc區殘基中之一或多者發生取代之彼等變異體：238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424或434，例如Fc區殘基434之取代(美國專利第7,371,826號)。關於Fc區變異體之其他實例，亦參見Duncan及Winter, *Nature* 322:738-40 (1988)；美國專利第5,648,260號；美國專利第5,624,821號；及WO 94/29351。

d) 半胱胺酸工程改造抗體變異體

在某些實施例中，可能需要產生半胱胺酸工程改造之抗體，例如「thioMAb」，其中抗體之一或多個殘基經半胱胺酸殘基取代。在特定實施例中，經取代之殘基存在於抗體之可達位點處。藉由用半胱胺酸取代彼等殘基，反應性硫醇基從而定位於抗體之可達位點且可用於使抗體與其他部分(諸如藥物部分或連接子-藥物部分)結合以產生如本文中進一步描述之免疫結合物。在某些實施例中，以下殘基中之任一者或多者可經半胱胺酸取代：輕鏈之V205 (Kabat編號)；重鏈之

A118 (EU編號)；及重鏈Fc區之S400 (EU編號)。可如例如美國專利第7,521,541號中所述產生半胱胺酸工程改造之抗體。

e) 抗體衍生物

在某些實施例中，本文中所提供之抗體可進一步修飾以含有此項技術中已知且可易於獲得之其他非蛋白質部分。適合於抗體衍生化之部分包括(但不限於)水溶性聚合物。水溶性聚合物之非限制性實例包括(但不限於)聚乙二醇(PEG)、乙二醇/丙二醇共聚物、羧甲基纖維素、聚葡萄糖、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯啉酮、聚-1,3-二氧雜環戊烷、聚-1,3,6-三噁烷、乙烯/順丁烯二酸酐共聚物、聚胺基酸(均聚物或無規共聚物)及聚葡萄糖或聚(N-乙烯吡咯啉酮)聚乙二醇、丙二醇均聚物、聚氧化丙烯/氧化乙烯共聚物、聚氧乙基化多元醇(例如甘油)、聚乙烯醇及其混合物。聚乙二醇丙醛因其於水中之穩定性而可具有製造優勢。聚合物可具有任何分子量，且可為分支鏈或未分支鏈。與抗體連接之聚合物的數目可變化，且若連接一個以上聚合物，則聚合物可為相同或不同分子。一般而言，用於衍生作用之聚合物之數目及/或類型可基於包括(但不限於)以下之考慮因素來確定：待改良抗體之特殊性或功能，抗體衍生物是否在限定條件下用於療法。

在另一實施例中，提供抗體與可藉由暴露於輻射而選擇性加熱之非蛋白質部分之結合物。在一個實施例中，非蛋白質部分為碳奈米管(Kam等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 11600-11605 (2005))。輻射可具有任何波長，且包括(但不限於)不損害普通細胞但將非蛋白質部分加熱至殺死抗體-非蛋白質部分鄰近之細胞之溫度的波長。

B. 重組方法及組合物

可使用例如如美國專利第4,816,567號中所述之重組方法及組合物產生抗體。在一個實施例中，提供編碼本文所述抗CD79b抗體的分離核酸。此類核酸可編碼包含抗體之VL的胺基酸序列及/或包含抗體

之VH的胺基酸序列(例如抗體之輕鏈及/或重鏈)。在另一個實施例中，提供包含此類核酸之一或多種載體(例如表現載體)。在又一實施例中，提供包含此類核酸之宿主細胞。在一個此類實施例中，宿主細胞包含(例如已經以下轉型)：(1)包含核酸的載體，該核酸編碼包含抗體VL的胺基酸序列及包含抗體VH的胺基酸序列；或(2)包含編碼含有抗體VL之胺基酸序列之核酸的第一載體及包含編碼含有抗體VH之胺基酸序列之核酸的第二載體。在一個實施例中，宿主細胞為真核細胞，例如中國倉鼠卵巢(CHO)細胞或淋巴細胞(例如Y0、NS0、Sp20細胞)。在一個實施例中，提供一種製備抗CD79b抗體之方法，其中該方法包含在適合於表現抗體之條件下培養如上文所提供之包含編碼抗體之核酸的宿主細胞及視情況自宿主細胞(或宿主細胞培養基)回收抗體。

為了重組產生抗CD79b抗體，分離編碼抗體的核酸(例如如上文所述)且插入一或多種載體中供進一步選殖及/或表現於宿主細胞中。此類核酸可容易使用習知程序(例如藉由使用能夠特異性結合至編碼抗體重鏈及輕鏈之基因的寡核苷酸探針)分離及測序。

適於選殖或表現抗體編碼載體之宿主細胞包括本文所描述之原核或真核細胞。舉例而言，抗體可於細菌中產生，尤其當不需要糖基化及Fc效應功能時。關於抗體片段及多肽在細菌中之表現，參見例如美國專利第5,648,237號、第5,789,199號及第5,840,523號。(亦參見Charlton, *Methods in Molecular Biology*, 第248卷(B.K.C. Lo編, Humana Press, Totowa, NJ, 2003), 第245-254, 描述抗體片段於大腸桿菌中之表現)。表現之後，可自可溶性溶離份中之細菌細胞糊狀物分離出抗體且可進一步純化。

除原核生物外，諸如絲狀真菌或酵母之真核微生物為適用於編碼抗體之載體的選殖或表現宿主，包括糖基化路徑已經「人類化」，

從而產生具有部分或完全人類糖基化型態之抗體的真菌及酵母菌株。參見 Gerngross, *Nat. Biotech.* 22:1409-1414 (2004)，及 Li 等人, *Nat. Biotech.* 24:210-215 (2006)。

適用於表現糖基化抗體之宿主細胞亦來源於多細胞生物體(無脊椎動物及脊椎動物)。無脊椎動物細胞之實例包括植物及昆蟲細胞。已鑑別出可與昆蟲細胞聯合使用，尤其用於轉染草地黏蟲(*Spodoptera frugiperda*)細胞之多種桿狀病毒株。

植物細胞培養物亦可用作宿主。參見例如美國專利第5,959,177號、第6,040,498號、第6,420,548號、第7,125,978號及第6,417,429號(描述用於在轉殖基因植物中產生抗體的PLANTIBODIES™技術)。

脊椎動物細胞亦可用作宿主。舉例而言，適於在懸浮液中生長之哺乳動物細胞株可為適用的。適用哺乳動物宿主細胞株之其他實例為經SV40 (COS-7)轉型之猴腎CV1細胞株；人類胚腎細胞株(如例如在Graham等人, *J. Gen Virol.* 36:59 (1977)中所述之293或293細胞)；幼倉鼠腎細胞(BHK)；小鼠睪丸支持細胞(mouse sertoli cell)(如例如在Mather, *Biol. Reprod.* 23:243-251 (1980)中所述之TM4細胞)；猴腎細胞(CV1)；非洲綠猴腎細胞(VERO-76)；人類子宮頸癌細胞(HELA)；犬腎細胞(MDCK)；布法羅大鼠肝細胞(buffalo rat liver cell)(BRL 3A)；人類肺細胞(W138)；人類肝細胞(Hep G2)；小鼠乳腺腫瘤(MMT 060562)；如例如在Mather等人, *Annals N.Y. Acad. Sci.* 383:44-68 (1982)中所述之TRI細胞；MRC 5細胞；及FS4細胞。其他適用哺乳動物宿主細胞株包括中國倉鼠卵巢(CHO)細胞，包括DHFR⁻ CHO細胞(Urlaub等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216 (1980))；及骨髓瘤細胞株，諸如Y0、NS0及Sp2/0。欲回顧適於產生抗體的某些哺乳動物宿主細胞株，參見例如Yazaki及Wu, *Methods in Molecular Biology*, 第248卷(B.K.C. Lo編, Humana Press, Totowa, NJ), 第255-268頁(2003)。

C. 分析

本文所提供之抗CD79b抗體可藉由此項技術中已知之各種分析，根據其物理/化學特性及/或生物活性加以鑑別、篩選或表徵。

1. 結合分析及其他分析

在一個態樣中，測試本發明抗體之抗原結合活性，例如藉由已知方法，諸如ELISA、西方墨點法等。

在另一態樣中，可使用競爭分析來鑑別與本文所述之抗CD79b抗體競爭結合至CD79b的抗體。在某些實施例中，此類競爭抗體結合至與本文所述抗CD79b抗體所結合相同的抗原決定基(例如線性或構形抗原決定基)。用於對抗體所結合之抗原決定基進行定位的詳細例示性方法提供於Morris (1996) 「Epitope Mapping Protocols,」, 於*Methods in Molecular Biology*第66卷(Humana Press, Totowa, NJ)中。

在例示性競爭分析中，所固著之CD79b在溶液中培育，該溶液包含結合至CD79b之第一經標記抗體(例如本文所述之抗CD79b抗體)及根據與第一抗體競爭結合至CD79b之能力加以測試的第二未標記抗體。第二抗體可存在於融合瘤上清液中。作為對照，所固著之CD79b在包含第一經標記抗體、但無第二未標記抗體之溶液中培育。在允許第一抗體結合至CD79b之條件下培育之後，移除過量的未結合抗體，且量測與所固著CD79b結合之標記之量。若測試樣品中的與所固著CD79b結合之標記之量相對於對照樣品而言實質上降低，則表明第二抗體與第一抗體競爭結合至CD79b。參見Harlow及Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* 第14章 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY)。

2. 活性分析

在一個態樣中，提供用於鑑別具有生物活性之其抗CD79b抗體(例如抗CD79b/CD3 TDB抗體)的分析。生物活性可包括例如抑制細胞

生長或增殖(例如「細胞殺死」活性)的能力、誘導細胞死亡(包括漸進式細胞死亡(細胞凋亡))的能力，或抗原結合活性。亦提供在活體內及/或活體外具有此類生物活性之抗體。

在一些實施例中，活性包含支持B細胞殺死及/或細胞毒性T細胞活化的能力。在某些實施例中，藉由任一種本文所述方法(尤其實例)測試本發明之抗CD79b抗體(例如抗CD79b/CD3 TDB抗體)的此類B細胞殺死及/或T細胞生物活性之細胞毒性效應之活化。在此等活性分析中任一者之一些實施例中，可藉由Ficoll分離法自健康供者之全血中分離出PBMC。詳言之，可用肝素化注射器收集人類血液，且使用Leucosep及Ficoll Paque Plus分離PBMC。需要時，可使用Miltenyi套組，根據製造商說明書分離CD4+T及CD8+T細胞。

另外，可用含有10% FBS、補充有GlutaMax、青黴素及鏈黴素的RPMI培養基洗滌細胞，且將約 0.2×10^6 個懸浮細胞添加至U形底96孔盤中。細胞在補充有10% FBS之RPMI1640中、在加濕的標準細胞培養物保溫箱中、在37°C培養。在BJAB細胞殺死分析中，可將20,000個BJAB細胞與效應細胞(呈huPBMC或經純化之T細胞形式)一起依根據分析指定之比率、在不同濃度的TDB抗體存在下培育24小時。在內源性B細胞殺死分析中，可將200,000個huPBMC與不同濃度之TDB抗體一起培育24小時。

培養之後，可用FACS緩衝液(含有0.5% BSA、0.05%疊氮化鈉的PBS)洗滌細胞。細胞接著可用FACS緩衝液染色，用FACS緩衝液洗滌且懸浮於含有1 μ g/ml碘化丙錠的100 μ l FACS緩衝液中。可用FACSCalibur流式細胞儀收集資料且使用FlowJo分析。可藉由FACS、以PI-CD19+或PI-CD20+ B細胞形式闡選出活B細胞，且可以添加至反應混合物中的FITC珠粒作為內部計數對照來獲得絕對細胞計數。細胞殺死百分比可基於非TDB處理對照來計算。使用抗CD69-FITC及抗

CD25-PE、根據CD69及CD25表面表現來偵測活化T細胞。

D. 免疫結合物

本發明亦提供包含本文中之抗CD79b抗體與一或多種細胞毒性劑(諸如化學治療劑或藥物、生長抑制劑、毒素(例如蛋白質毒素；細菌、真菌、植物或動物來源之酶促活性毒素或其片段)或放射性同位素)結合的免疫結合物。

在一個實施例中，免疫結合物為抗體-藥物結合物(ADC)，其中抗體與一或多種藥物結合，包括(但不限於)類美登素(參見美國專利第5,208,020號、第5,416,064號及歐洲專利EP 0 425 235 B1)；奧瑞他汀，諸如單甲基阿瑞他汀藥物部分DE及DF (MMAE及MMAF)(參見美國專利第5,635,483號及第5,780,588號及第7,498,298號)；海兔毒素；卡奇黴素或其衍生物(參見美國專利第5,712,374號、第5,714,586號、第5,739,116號、第5,767,285號、第5,770,701號、第5,770,710號、第5,773,001號及第5,877,296號；Hinman等人, *Cancer Res.* 53:3336-3342 (1993)；及Lode等人, *Cancer Res.* 58:2925-2928 (1998))；蔥環黴素，諸如道諾黴素或小紅莓(參見Kratz等人, *Current Med. Chem.* 13:477-523 (2006)；Jeffrey等人, *Bioorganic & Med. Chem. Letters* 16:358-362 (2006)；Torgov等人, *Bioconj. Chem.* 16:717-721 (2005)；Nagy等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:829-834 (2000)；Dubowchik等人, *Bioorg. & Med. Chem. Letters* 12:1529-1532 (2002)；King等人, *J. Med. Chem.* 45:4336-4343 (2002)；及美國專利第6,630,579號)；甲胺喋呤；長春地辛；紫杉烷，諸如多西他賽、太平洋紫杉醇、拉洛他賽(larotaxel)、替司他賽(tesetaxel)及奧他賽(ortataxel)；新月毒素；及CC1065。

在另一個實施例中，免疫結合物包含與酶促活性毒素或其片段結合之如本文所述之抗體，該酶促活性毒素或其片段包括(但不限於)

白喉A鏈(diphtheria A chain)、白喉毒素之非結合活性片段、外毒素A鏈(來自綠膿桿菌(*Pseudomonas aeruginosa*))、蓖麻毒素A鏈(ricin A chain)、相思子毒素A鏈(abrin A chain)、莫迪素A鏈(modeccin A chain)、 α -帚麴菌素(alpha-sarcin)、油桐(*Aleurites fordii*)蛋白、康乃馨(dianthin)蛋白、洋商陸(*Phytolacca americana*)蛋白(PAPI、PAPII及PAP-S)、苦瓜(*Momordica charantia*)抑制劑、麻瘋樹毒蛋白(curcin)、巴豆毒素(crotonin)、肥皂草(*Saponaire officinalis*)抑制劑、白樹素(gelonin)、有絲分裂素(mitogellin)、侷限麴菌素(restrictocin)、酚黴素(phenomycin)、伊諾黴素(enomycin)及新月毒素。

在另一實施例中，免疫結合物包含與放射性原子結合以形成放射性結合物之如本文所述之抗體。多種放射性同位素可用於產生放射性結合物。實例包括 At^{211} 、 I^{131} 、 I^{125} 、 Y^{90} 、 Re^{186} 、 Re^{188} 、 Sm^{153} 、 Bi^{212} 、 P^{32} 、 Pb^{212} 及Lu之放射性同位素。當放射性結合物用於偵測時，其可包含用於閃爍攝影研究之放射性原子，例如TC99m或I123；或用於核磁共振(NMR)成像(亦稱為磁共振成像，MRI)之自旋標記，又諸如碘-123、碘-131、銻-111、氟-19、碳-13、氮-15、氧-17、釷、錳或鐵。

可使用多種雙官能蛋白質偶合劑製得抗體與細胞毒性劑之結合物，該等雙官能蛋白質偶合劑為諸如N-丁二醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫基)丙酸酯(SPDP)、丁二醯亞胺基-4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1-甲酸酯(SMCC)、亞胺基硫雜環戊烷(IT)、亞胺基酯之雙官能衍生物(諸如二亞胺代己二酸二甲酯HCl)、活性酯(諸如二丁二醯亞胺基辛二酸酯)、醛(諸如戊二醛)、雙疊氮基化合物(諸如雙(對疊氮基苯甲醯基)己二胺)、雙重氮衍生物(諸如雙(對重氮苯甲醯基)-乙二胺)、二異氰酸酯(諸如甲苯2,6-二異氰酸酯)及雙活性氟化合物(諸如1,5-二氟-2,4-二硝基苯)。舉例而言，蓖麻毒素免疫毒素可如 Vitetta 等人，

Science 238:1098 (1987)所述來製備。碳14標記之1-異硫氰基苯甲基-3-甲基二仲乙三胺五乙酸(MX-DTPA)為用於放射性核苷酸與抗體結合之例示性螯合劑。參見WO94/11026。連接子可為有助於細胞毒性藥物在細胞中釋放之「可裂解連接子」。舉例而言，可使用酸不穩定連接子、肽酶敏感性連接子、光不穩定連接子、二甲基連接子或含有二硫鍵之連接子(Chari等人, *Cancer Res.* 52:127-131 (1992); 美國專利第5,208,020號)。

本文之免疫結合物或ADC明確涵蓋(但不限於)用交聯試劑製備之此類結合物，交聯試劑包括(但不限於) BMPS、EMCS、GMBS、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMCC、SMPB、SMPH、磺基-EMCS、磺基-GMBS、磺基-KMUS、磺基-MBS、磺基-SIAB、磺基-SMCC及磺基-SMPB，及SVSB (丁二醯亞胺基-(4-乙烯基磺)苯甲酸酯)，該等交聯試劑可市購(例如購自Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL., U.S.A)。

E. 用於診斷及偵測之方法及組合物

在一個態樣中，本發明之抗CD79b抗體適用於偵測生物樣品中之CD79b之存在。如本文所用，術語「偵測」涵蓋定量或定性偵測。在某些實施例中，生物樣品包含細胞或組織。在某些實施例中，此類組織包括表現CD79b之量高於其他組織(例如B細胞及/或B細胞相關組織)的正常及/或癌組織。

在一個實施例中，提供診斷或偵測方法中所用之抗CD79b抗體。在又一態樣中，提供偵測生物樣品中CD79b之存在的方法。在某些實施例中，該方法包含使生物樣品與如本文所述之抗CD79b抗體在允許抗CD79b抗體結合至CD79b之條件下接觸，及偵測抗CD79b抗體與CD79b之間是否形成複合物。此類方法可為活體外或活體內方法。在一個實施例中，抗CD79b抗體用於選擇適於用抗CD79b抗體治療之個

體，例如其中CD79b為用於選擇患者之生物標記物。

可使用本發明抗體診斷的例示性細胞增殖性病變包括B細胞病變及/或B細胞增殖性病變，包括(但不限於)淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、侵襲性NHL、復發侵襲性NHL、復發惰性NHL、難治性NHL、難治性惰性NHL、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、小淋巴細胞性淋巴瘤、白血病、毛細胞白血病(HCL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)及套細胞淋巴瘤。

某些其他方法可用於偵測抗CD79b抗體對CD79b的結合。此類方法包括(但不限於)此項技術中熟知的抗原結合分析，諸如西方墨點法、放射免疫分析、ELISA (酶聯免疫吸附分析)、「夾心」免疫分析、免疫沈澱分析、螢光免疫分析、蛋白質A免疫分析及免疫組織化學(IHC)。

在某些實施例中，提供經標記之抗CD79b抗體。標記包括(但不限於)直接偵測之標記或部分(諸如螢光、發色、電子緻密、化學發光及放射性標記)，以及例如經由酶促反應或分子相互作用間接偵測之部分(諸如酶或配位體)。例示性標記包括(但不限於)放射性同位素 ^{32}P 、 ^{14}C 、 ^{125}I 、 ^3H 及 ^{131}I ；螢光團，諸如稀土螯合物或螢光素及其衍生物；若丹明(rhodamine)及其衍生物；丹醯基(dansyl)；傘酮；螢光素酶，例如螢火蟲螢光素酶及細菌螢光素酶(美國專利第4,737,456號)；螢光素；2,3-二氫酞嗪二酮；辣根過氧化酶(HRP)；鹼性磷酸酶； β -半乳糖苷酶；葡糖澱粉酶；溶菌酶；醣氧化酶，例如葡萄糖氧化酶、半乳糖氧化酶及葡萄糖-6-磷酸去氫酶；雜環氧化酶，諸如尿酸酶及黃嘌呤氧化酶，其與使用過氧化氫將染料前驅物氧化之酶(諸如HRP、乳過氧化酶或微過氧化酶)偶合；生物素/抗生物素蛋白；自旋標記；噬菌體標記；穩定自由基及其類似標記。

F. 醫藥調配物

如本文所述之抗CD79b抗體之醫藥調配物係藉由將具有所要純度之此類抗體與一或多種視情況存在之醫藥學上可接受之載劑混合 (*Remington's Pharmaceutical Sciences* 第16版, Osol, A. 編(1980)), 以凍乾調配物或水溶液形式來製備。醫藥學上可接受之載劑在所用劑量及濃度下通常對接受者無毒, 且包括(但不限於): 緩衝劑, 諸如磷酸鹽、檸檬酸鹽及其他有機酸; 抗氧化劑, 包括抗壞血酸及甲硫胺酸; 防腐劑(諸如氯化十八烷基二甲基苯甲基銨; 氯化六羥季銨; 苯紫氯銨; 苄索氯銨(benzethonium chloride); 苯酚、丁醇或苯甲醇; 對羥基苯甲酸烷酯, 諸如對羥基苯甲酸甲酯或對羥基苯甲酸丙酯; 兒茶酚; 間苯二酚; 環己醇; 3-戊醇; 及間甲酚); 低分子量(小於約10個殘基)多肽; 蛋白質, 諸如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白; 親水性聚合物, 諸如聚乙烯吡咯酮; 胺基酸, 諸如甘胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺、組胺酸、精胺酸或離胺酸; 單醣、雙醣及其他碳水化合物, 包括葡萄糖、甘露糖或糊精; 螯合劑, 諸如EDTA; 糖類, 諸如蔗糖、甘露糖醇、海藻糖或山梨糖醇; 成鹽相對離子, 諸如鈉; 金屬錯合物(例如Zn-蛋白質錯合物); 及/或非離子型界面活性劑, 諸如聚乙二醇(PEG)。本文中之例示性醫藥學上可接受之載劑進一步包括間質藥物分散劑, 諸如可溶性中性活性玻尿酸酶醣蛋白(sHASEGP), 例如人類可溶性PH-20玻尿酸酶醣蛋白, 諸如rHuPH20 (HYLENEX®, Baxter International, Inc.)。某些例示性sHASEGP (包括rHuPH20)及使用方法描述於美國專利公開案第2005/0260186號及第2006/0104968號中。在一個態樣中, sHASEGP與一或多種其他葡萄糖胺聚糖酶(諸如軟骨素酶)組合。

例示性凍乾抗體調配物描述於美國專利第6,267,958號中。水性抗體調配物包括美國專利第6,171,586號及WO2006/044908中所述之彼等物, 後者調配物包括組胺酸-乙酸鹽緩衝液。

本文之調配物亦可含有超過一種為所治療之特定適應症所必需之活性成分，較佳為具有不會對彼此產生不利影響之互補活性的活性成分。舉例而言，除抗CD79b抗體之外，一種調配物中可能需要包括另一種抗體，例如結合CD79b多肽上之不同抗原決定基的第二種抗CD79b抗體，或針對一些其他標靶(諸如影響特定癌症生長的生長因子)的抗體。或者或另外，組合物可進一步包含化學治療劑、細胞毒性劑、細胞激素、生長抑制劑、抗激素劑及/或保心藥。此類分子宜以對預期目的有效之量存在於組合中。

活性成分可截留於微膠囊中，例如藉由凝聚技術或藉由界面聚合法所製備之微膠囊，例如分別為羥甲基纖維素或明膠微膠囊及聚(甲基丙烯酸甲酯)微膠囊；截留於膠態藥物遞送系統(例如脂質體、白蛋白微球體、微乳液、奈米顆粒及奈米膠囊)中或巨乳液中。此類技術揭示於 *Remington's Pharmaceutical Sciences* 第16版，Osol, A. 編(1980)中。

可製備持續釋放製劑。持續釋放製劑之適合實例包括含有抗體之固體疏水性聚合物之半滲透基質，該等基質呈成形物品形式，例如膜或微膠囊。

用於活體內投與之調配物通常為無菌的。無菌性可容易藉由例如無菌過濾膜過濾來實現。

G. 治療方法及組合物

本文所提供之任一種抗CD79b抗體(例如抗CD79b/CD3 TDB抗體)可用於治療方法中。

在一個態樣中，提供適用作藥劑的抗CD79b抗體(例如抗CD79b/CD3 TDB抗體)。在其他態樣中，提供用於治療或延遲細胞增殖性病徵(例如癌症及/或B細胞增殖性疾病)的抗CD79b抗體(例如抗CD79b/CD3 TDB抗體)。在某些實施例中，提供治療方法中所用的抗

CD79b抗體(例如抗CD79b/抗CD3雙特異性抗體)。在某些實施例中，本發明提供治療患有細胞增殖性病徵之個體之方法中所用的抗CD79b抗體(例如抗CD79b/CD3 TDB抗體)，該方法包含向該個體投與有效量之抗CD79b抗體(例如抗CD79b/CD3 TDB抗體)。在一個此類實施例中，方法進一步包含向個體投與有效量之至少一種其他治療劑，例如如下文所述。在其他實施例中，本發明提供用於增強患有細胞增殖性病徵之個體之免疫功能的抗CD79b抗體(例如抗CD79b/CD3 TDB抗體)。在某些實施例中，本發明提供增強患有細胞增殖性病徵之個體之免疫功能之方法中所用的抗CD79b抗體(例如抗CD79b/CD3 TDB抗體)，該方法包含向該個體投與有效的抗CD79b抗體(例如抗CD79b/CD3 TDB抗體)以活化效應細胞(例如T細胞，例如CD8+及/或CD4+ T細胞)、擴增(增加)效應細胞群及/或殺死標靶細胞(例如標靶B細胞)。根據任一上述實施例之「個體」可為人類。

在另一態樣中，本發明提供抗CD79b抗體(例如抗CD79b/CD3 TDB抗體)用於製造或製備藥劑的用途。在一個實施例中，藥劑係用於治療細胞增殖性病徵(例如癌症及/或B細胞增殖性病徵)。在另一個實施例中，藥劑係用於治療細胞增殖性病徵之方法中，該方法包含向患有細胞增殖性病徵之個體投與有效量之藥劑。在一個此類實施例中，方法進一步包含向個體投與有效量之至少一種其他治療劑，例如如下文所述。在另一個實施例中，藥劑係用於在個體中活化效應細胞(例如T細胞，例如CD8+及/或CD4+ T細胞)、擴增(增加)效應細胞，及/或殺死標靶細胞(例如標靶B細胞)。在另一個實施例中，藥劑係用於增強患有細胞增殖性病徵或自體免疫病症之個體之免疫功能的方法中，該方法包含向個體投與有效量之藥劑以活化效應細胞(例如T細胞，例如CD8+及/或CD4+ T細胞)、擴增(增加)效應細胞群及/或殺死標靶細胞(例如標靶B細胞)。根據任一上述實施例之「個體」可為人

類。

在另一態樣中，本發明提供治療細胞增殖性病症(例如癌症及/或B細胞增殖性病症)的方法。在一個實施例中，方法包含向患有此類細胞增殖性病症之個體投與有效量之抗CD79b抗體(例如抗CD79b/CD3 TDB抗體)。在一個此類實施例中，方法進一步包含向個體投與有效量之至少一種其他治療劑，例如如下文所述。根據任一上述實施例之「個體」可為人類。

在另一態樣中，本發明提供一種增強患有細胞增殖性病症之個體之免疫功能的方法。在一個實施例中，方法包含向個體投與有效量之抗CD79b抗體(例如抗CD79b/CD3 TDB抗體)以活化效應細胞(例如T細胞，例如CD8+及/或CD4+ T細胞)、擴增(增加)效應細胞群及/或殺死標靶細胞(例如標靶B細胞)。在一個實施例中，「個體」為人類。

本發明之抗CD79b抗體(例如抗CD79b/CD3 TDB抗體)可用於例如活體外、離體及活體內治療方法中。在一個態樣中，本發明提供抑制活體內或活體外細胞生長或增殖的方法，方法包含在容許結合至CD79b的條件下使細胞暴露於抗CD79b抗體。「抑制細胞生長或增殖」意謂使細胞生長或增殖減少至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或100%，且包括誘導細胞死亡。在某些實施例中，細胞為腫瘤細胞。在某些實施例中，細胞為B細胞。在某些實施例中，細胞為異種移植物，例如如本文中所說明。

在一個態樣中，本發明之抗CD79b抗體(例如抗CD79b/CD3 TDB抗體)用於治療或預防B細胞增殖性病症。在某些實施例中，細胞增殖性病症與增強的CD79b表現及/或活性相關。舉例而言，在某些實施例中，B細胞增殖性病症與B細胞表面上之CD79b表現增強相關。在某些實施例中，B細胞增殖性病症為腫瘤或癌症。藉由本發明抗體治療之B細胞增殖性病症之實例包括(但不限於)淋巴瘤、非霍奇金氏淋

巴瘤(NHL)、侵襲性NHL、復發侵襲性NHL、復發惰性NHL、難治性NHL、難治性惰性NHL、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、小淋巴細胞性淋巴瘤、白血病、毛細胞白血病(HCL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)及套細胞淋巴瘤。在任一種B細胞增殖性病征的一些實施例中，B細胞增殖性病征對於抗CD79b免疫結合物(例如抗CD79b MMAE免疫結合物)療法具有抗性。

在另一態樣中，本發明提供包含本文所提供之任一種抗CD79b抗體(例如抗CD79b/CD3 TDB抗體)的醫藥調配物，例如用於任一種上述治療方法中。在一個實施例中，醫藥調配物包含本文所提供之任一種抗CD79b抗體及醫藥學上可接受之載劑。在另一個實施例中，醫藥調配物包含本文所提供之任一種抗CD79b抗體(例如抗CD79b/CD3 TDB抗體)及至少一種其他治療劑，例如如下文所述。

在一個實施例中，B細胞增殖性疾病包括(但不限於)淋巴瘤(例如B細胞非霍奇金氏淋巴瘤(NHL))及淋巴細胞性白血病。此類淋巴瘤及淋巴細胞性白血病包括例如a)濾泡性淋巴瘤；b)小非分裂細胞淋巴瘤/伯基特氏淋巴瘤(包括地方性伯基特氏淋巴瘤、偶發性伯基特氏淋巴瘤及非伯基特氏淋巴瘤)；c)邊緣區(包括結外邊緣區B細胞淋巴瘤(黏膜相關淋巴組織淋巴瘤，MALT)、結邊緣區B細胞淋巴瘤及脾邊緣區淋巴瘤)；d)套細胞淋巴瘤(MCL)；e)大細胞淋巴瘤(包括B細胞瀰漫性大細胞淋巴瘤(DLCL)、瀰漫性混合細胞淋巴瘤、免疫母細胞淋巴瘤、原發性縱隔B細胞淋巴瘤、血管中心性淋巴瘤-肺B細胞淋巴瘤)；f)毛細胞白血病；g)淋巴細胞性淋巴瘤、瓦爾登斯特倫巨球蛋白血症(Waldenstrom's macroglobulinemia)；h)急性淋巴細胞性白血病(ALL)、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)/小淋巴細胞性淋巴瘤(SLL)、B細胞前淋巴球性白血病；i)漿細胞贅瘤、漿細胞骨髓瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤；及/或j)霍奇金氏疾病。

在任一種方法之一些實施例中，B細胞增殖性病症為癌症。在一些實施例中，B細胞增殖性病症為淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、侵襲性NHL、復發侵襲性NHL、復發惰性NHL、難治性NHL、難治性惰性NHL、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、小淋巴細胞性淋巴瘤、白血病、毛細胞白血病(HCL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)，或套細胞淋巴瘤。在一些實施例中，B細胞增殖性病症為NHL，諸如惰性NHL及/或侵襲性NHL。在一些實施例中，B細胞增殖性病症為惰性濾泡性淋巴瘤或瀰漫性大B細胞淋巴瘤。在任一種B細胞增殖性病症的一些實施例中，B細胞增殖性病症對於抗CD79b免疫結合物(例如抗CD79b MMAE免疫結合物)療法具有抗性。

本發明抗體可單獨或與其他藥劑組合用於療法中。舉例而言，本發明抗體可與至少一種其他治療劑及/或佐劑共投與。在某些實施例中，其他治療劑為細胞毒性劑、化學治療劑或生長抑制劑。在此類實施例之一中，化學治療劑為一種藥劑或藥劑組合，諸如環磷醯胺、羥基道諾黴素、阿黴素、小紅莓、長春新鹼(Oncovin™)、潑尼龍、CHOP、CHP、CVP或COP，或免疫治療劑，諸如抗CD20 (例如Rituxan®)或抗VEGF (例如Avastin®)，其中組合療法適用於治療癌症及/或B細胞病症，諸如B細胞增殖性病症，包括淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、侵襲性NHL、復發侵襲性NHL、復發惰性NHL、難治性NHL、難治性惰性NHL、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、小淋巴細胞性淋巴瘤、白血病、毛細胞白血病(HCL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)及套細胞淋巴瘤。在其他實施例中，舉例而言，本發明抗體可與至少一種其他治療劑共投與。在某些實施例中，其他治療劑為化學治療劑、生長抑制劑、細胞毒性劑、輻射療法所用之藥劑、抗血管生成劑、細胞凋亡劑、抗微管蛋白劑或其他藥劑，諸如表皮生長因子受體(EGFR)拮抗劑(例如酪胺酸激酶抑制劑)、HER1/EGFR抑制劑(例如

埃羅替尼(TarcevaTM)、血小板衍生長因子抑制劑(例如GleevecTM (甲磺酸伊馬替尼(Imatinib Mesylate)))、COX-2抑制劑(例如塞內昔布)、干擾素、細胞激素、除本發明抗CD3抗體之外的抗體，諸如結合至以下標靶中之一或多者的抗體：ErbB2、ErbB3、ErbB4、PDGFR- β 、BlyS、APRIL、BCMA VEGF或VEGF受體、TRAIL/Apo2，或其他生物活性劑或有機化學劑。

在一些實施例中，方法可進一步包含其他療法。其他療法可為輻射療法、手術、化學療法、基因療法、DNA療法、病毒療法、RNA療法、免疫療法、骨髓移植、奈米療法、單株抗體療法或前述各者之組合。其他療法可呈輔助或新輔助療法形式。在一些實施例中，其他療法為投與小分子酶抑制劑或抗轉移藥劑。在一些實施例中，其他療法為投與副作用限制性藥劑(例如意欲減少治療副作用之出現及/或嚴重程度的藥劑，諸如抗噁心劑等)。在一些實施例中，另一種療法為輻射療法。在一些實施例中，額外療法為手術。在一些實施例中，其他療法為輻射療法與手術之組合。在一些實施例中，其他療法為 γ 照射。在一些實施例中，其他療法可為分開投與一或多種上述治療劑。

在任一種方法之一些實施例中，其他治療劑為糖皮質激素。在一些實施例中，糖皮質激素係選自由以下組成之群：地塞米松、氫皮質酮(hydrocortisone)、可的松(cortisone)、潑尼龍(prednisolone)、潑尼松(prednisone)、甲基潑尼松(methylprednisone)、曲安西龍(triamcinolone)、帕拉米松(paramethasone)、倍他米松(betamethasone)、氟氫可的松(fludrocortisone)，及其醫藥學上可接受之酯、鹽及複合物。在一些實施例中，糖皮質激素為地塞米松。在一些實施例中，糖皮質激素為地塞米松之醫藥學上可接受之酯、鹽或複合物。在一些實施例中，糖皮質激素為地塞米松。

在任一種方法之一些實施例中，其他療法包含抗CD20抗體。在

一些實施例中，抗CD20抗體包含利妥昔單抗。在一些實施例中，抗CD20抗體為人類化B-Ly1抗體。在一些實施例中，人類化B-Ly1抗體為奧比尼單抗(obinituzumab)。在一些實施例中，抗CD20抗體為奧伐木單抗(ofatumumab)、尤必昔單抗(ublrituximab)及/或異貝莫單抗泰澤坦(ibritumomab tiuxetan)。

在任一種方法之一些實施例中，其他療法包含烷化劑。在一些實施例中，烷化劑為4-[5-[雙(2-氯乙基)胺基]-1-甲基苯并咪唑-2-基]丁酸及其鹽。在一些實施例中，烷化劑為苯達莫司汀(bendamustine)。

在任一種方法之一些實施例中，其他療法包含BCL-2抑制劑。在一些實施例中，BCL-2抑制劑為4-(4-{[2-(4-氯苯基)-4,4-二甲基環己-1-烯-1-基]甲基}哌嗪-1-基)-N-({3-硝基-4-[(四氫-2H-哌喃-4-基甲基)胺基]苯基}磺醯基)-2-(1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基氧基)苯甲醯胺及其鹽。在一些實施例中，BCL-2抑制劑為維托拉斯(venetoclax)(CAS#: 1257044-40-8)。

在任一種方法的一些實施例中，其他療法包含磷酸肌醇3-激酶(PI3K)抑制劑。在一些實施例中，PI3K抑制劑抑制PI3K之 δ 同功異型物(亦即P110 δ)。在一些實施例中，PI3K抑制劑為5-氟-3-苯基-2-[(1S)-1-(7H-嘌呤-6-基胺基)丙基]-4(3H)-喹啉酮及其鹽。在一些實施例中，PI3K抑制劑為艾德斯布(idelalisib)(CAS#: 870281-82-6)。在一些實施例中，PI3K抑制劑抑制PI3K之 α 及 δ 同功異型物。在一些實施例中，PI3K抑制劑為2-{3-[2-(1-異丙基-3-甲基-1H-1,2,4-三唑-5-基)-5,6-二氫苯并[f]咪唑并[1,2-d][1,4]噁氮呋-9-基]-1H-吡啶-1-基}-2-甲基丙醯胺及其鹽。

在任一種方法的一些實施例中，其他療法包含布魯頓氏酪氨酸激酶(Bruton's tyrosine kinase, BTK)抑制劑。在一些實施例中，BTK抑制劑為1-[(3R)-3-[4-胺基-3-(4-苯氧基苯基)-1H-吡啶并[3,4-d]嘧啶-

1-基]哌啶-1-基]丙-2-烯-1-酮及其鹽。在一些實施例中，BTK抑制劑為依魯替尼(ibrutinib)(CAS#: 936563-96-1)。

在任一種方法的一些實施例中，其他療法包含沙立度胺(thalidomide)或其衍生物。在一些實施例中，沙立度胺或其衍生物為(RS)-3-(4-胺基-1-側氧基-1,3-二氫-2H-異吲哚-2-基)哌啶-2,6-二酮及其鹽。在一些實施例中，沙立度胺或其衍生物為來那度胺(CAS#: 191732-72-6)。

在任一種方法的一些實施例中，其他療法包含環磷醯胺、小紅莓、長春新鹼或潑尼龍(CHOP)中之一或多者。在一些實施例中，其他療法進一步包含如上文所述的抗CD20抗體(例如GA-101及/或美羅華(Rituxan))。

在任一種方法的一些實施例中，其他療法包含環磷醯胺、小紅莓或潑尼龍(CHOP)中之一或多者。在一些實施例中，其他療法進一步包含如上文所述的抗CD20抗體(例如GA-101及/或美羅華)。在一些實施例中，其他療法進一步包含抗CD79b抗體藥物結合物。在一些實施例中，抗CD79b抗體藥物結合物為抗CD79b-MC-vc-PAB-MMAE。在一些實施例中，抗CD79b抗體藥物結合物描述於U.S. 8,088,378及/或US 2014/0030280中的任一者中，其以全文引用的方式併入本文中。在一些實施例中，抗CD79b抗體藥物結合物為保納珠單抗維多汀(polatuzumab vedotin)。在任一種B細胞增殖性病徵的一些實施例中，B細胞增殖性病徵對於抗CD79b抗體藥物結合物(例如抗CD79b MMAE抗體藥物結合物)療法具有抗性。在一些實施例中，抗CD79b抗體藥物結合物為保納珠單抗維多汀。

在任一種方法之一些實施例中，其他療法包含PD-1軸結合拮抗劑。在任一種方法之一些實施例中，其他療法包含PD-1結合拮抗劑。在任一種方法之一些實施例中，其他療法包含PD-L1結合拮抗劑。在

任一種方法之一些實施例中，其他療法包含PD-L2結合拮抗劑。

在任一種方法的一些實施例中，本發明抗體(及任何其他治療劑)可藉由任何適合方式投與，包括非經腸、肺內及鼻內，及局部需要時的病灶內投與。非經腸輸注包括肌肉內、靜脈內、動脈內、腹膜內或皮下投與。可藉由任何適合途徑(例如注射，諸如靜脈內或皮下注射)給藥，此部分地視短期或長期投藥而定。本文中涵蓋各種給藥時程，包括(但不限於)單次投與或在多個時間點多次投與、快速投與及脈衝式輸注。在一些實施例中，投藥為皮下投藥。

本發明抗體將以與良好醫療實務一致之方式調配、給藥及投與。在此情形中考慮之因素包括所治療之特定病症、所治療之特定哺乳動物、個別患者之臨床病狀、病症起因、藥劑遞送部位、投藥方法、投藥時程及從醫者已知的其他因素。抗體並非必須、而是視情況與一或多種當前用於預防或治療所述病症之藥劑一起調配。此類其他藥劑之有效量視存在於調配物中之抗體之量、病症或治療之類型及如上文所述之其他因素而定。此等藥劑一般以與本文所述相同之劑量且用如本文所述之投與途徑使用，或以本文所述劑量之約1%至99%使用，或以任何劑量且憑經驗/臨床上確定為適當之任何途徑使用。

為預防或治療疾病，本發明抗體之適當劑量(當單獨或與一或多種其他額外治療劑組合使用時)將視以下而定：待治療疾病之類型、抗體類型、疾病之嚴重度及病程、是否出於預防或治療目的投與抗體、先前療法、患者之臨床病史及對抗體之反應及主治醫師之判斷。一次性或歷經一系列治療向患者適當地投與該抗體。

作為一般提議，投與人類之抗CD79b抗體(例如抗CD79b/CD3 TDB抗體)的治療有效量將在每公斤患者體重約0.01 mg至約100 mg範圍內，不論一或多次投藥。在一些實施例中，所用抗體每天投與例如約0.01至約45 mg/kg、約0.01至約40 mg/kg、約0.01至約35 mg/kg、約

0.01至約30 mg/kg、約0.01至約25 mg/kg、約0.01至約20 mg/kg、約0.01至約15 mg/kg、約0.01至約10 mg/kg、約0.01至約5 mg/kg，或約0.01至約1 mg/kg。在一個實施例中，本文所述之抗CD79b抗體(例如抗CD79b/CD3 TDB抗體)係在21天循環中的第1天、以約100 mg、約200 mg、約300 mg、約400 mg、約500 mg、約600 mg、約700 mg、約800 mg、約900 mg、約1000 mg、約1100 mg、約1200 mg、約1300 mg或約1400 mg之劑量投與。劑量可以單次劑量或以多次劑量(例如2或3次劑量)投與，諸如輸注。對於歷經數日或更長時間之重複投與，治療一般將視病況而定持續至對疾病症狀發生所需抑制為止。抗體之一種例示性劑量在約0.05 mg/kg至約10 mg/kg範圍內。因此，可向患者投與約0.5 mg/kg、2.0 mg/kg、4.0 mg/kg或10 mg/kg(或其任何組合)之一或多種劑量。此類劑量可間歇地投與，例如每週或每三週(例如使得患者接受約兩次至約二十次或例如約六次劑量的抗CD79b抗體(例如抗CD79b/CD3 TDB抗體)。最初可投與較高起始劑量，隨後可投與一或多次較低劑量。此療法之進程容易藉由習知技術及分析來監測。

H. 製品

在本發明之另一態樣中，提供含有適用於治療、預防及/或診斷上述病症之物質的製品。製品包含容器及附於或系連於容器之標籤或藥品說明書。適合的容器包括例如瓶子、小瓶、注射器、IV溶液袋等。容器可由諸如玻璃或塑膠之多種材料形成。容器容納單獨或與有效治療、預防及/或診斷病狀之另一種組合物組合的組合物，且可具有無菌接取口(例如容器可為具有可由皮下注射針刺穿之塞子的靜脈內溶液袋或小瓶)。組合物中之至少一種活性劑為本發明抗體。標籤或藥品說明書指示組合物用於治療所選病狀。此外，製品可包含(a)內含組合物之第一容器，其中該組合物包含本發明抗體；及(b)內含

組合物之第二容器，其中該組合物包含另一種細胞毒性劑或治療劑。本發明之此實施例中之製品可進一步包含指示組合物可用於治療特定病狀之藥品說明書。或者或另外，製品可進一步包含第二(或第三)容器，其包含醫藥學上可接受之緩衝液，諸如注射用抑菌水(BWFI)、磷酸鹽緩衝生理鹽水、林格氏溶液及右旋糖溶液。其可進一步包括就商業及使用者觀點而言所需之其他物質，包括其他緩衝劑、稀釋劑、過濾器、針及注射器。

應瞭解，代替或除抗CD79b抗體之外，任一種上述製品可包括本發明之免疫結合物。

III. 實例

以下為本發明之方法及組合物之實例。應瞭解，考慮到上文提供之一般描述，可實施各種其他實施例。

實例1

材料及方法

A. 單株抗體產生

藉由將表現人類CD79b之經Fc標記或His標記之細胞外域(ECD)的載體瞬時轉染至CHO細胞中來產生用於免疫接種小鼠的蛋白質。在蛋白質A管柱上自經轉染之細胞上清液中純化蛋白質且藉由N末端測序來確認蛋白質身分。十隻Balb/c小鼠(Charles River Laboratories, Hollister, Calif.)用人類CD79b之重組Fc標記或His標記ECD進行超免疫。將藉由直接ELISA展現針對人類CD79b免疫原之高抗體效價且特異性結合至 Ramos 細胞的小鼠 B 細胞與小鼠骨髓瘤細胞(X63.Ag8.653；美國菌種保藏中心(American Type Culture Collection), Rockville, Md.)融合，如先前所述(Hongo, J. S.等人, *Hybridoma*, 14:253-260 (1995)；Kohler, G.等人, *Nature*, 256:495-497 (1975)；Freund, Y. R.等人, *J. Immunol.*, 129:2826-2830 (1982))。10至12天之

後，收集上清液且藉由直接ELISA及FACS，根據抗體產生及結合來篩選，如上文所指示。將藉由限制稀釋法進行第二輪次選殖之後顯示最高免疫結合的陽性純系擴增且培養用於進一步表徵，包括人類CD79b特異性及交叉反應性。自各融合瘤譜系收集的上清液藉由親和層析(Pharmacia快速蛋白質液相層析(FPLC); Pharmacia, Uppsala, Sweden)加以純化，如先前所述(Hongo, J. S.等人, *Hybridoma*, 14:253-260 (1995); Kohler, G.等人, *Nature*, 256:495-497 (1975); Freund, Y. R.等人, *J. Immunol.*, 129:2826-2830 (1982))。純化之抗體製劑接著經無菌過濾(0.2- μ m孔徑; Nalgene, Rochester N.Y.)且在磷酸鹽緩衝生理鹽水(PBS)中、在4°C下儲存。

B. TDB之產生

TDB抗體係以人類IgG1之白包杵形式之全長抗體形式產生，如先前所述(Atwell等人, *J. Mol. Biol.* 270:26-35, 1997)。半抗體在大腸桿菌或中國倉鼠卵巢(CHO)細胞中表現，藉由蛋白質A親和層析加以純化，且對適當的半抗體對進行活體外黏接，如先前所述(Spiess等人, *Nat. Biotechnol.* 2013)。若TDB抗體產生係在CHO細胞中進行，則抗體可包括非糖基化突變，例如殘基N297之突變(例如N297G)，使得TDB抗體為效應較弱的變異體且不能起始抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)。

黏接之後，抗CD79b/CD3 TDB抗體藉由疏水性相互作用層析(HIC)加以純化且藉由分析性凝膠過濾、質譜分析及聚丙烯醯胺凝膠電泳加以表徵。純化抗體在凝膠過濾中作為單峰(>99%信號)流動，具有小於0.2%聚集物。藉由質譜分析未偵測到均二聚體。

C. 結合親和力

藉由Biacore或FACS分析來測試針對CD3/CD79b TDB中之每一者的結合親和力。簡言之，在Biacore結合分析中，使用得自Biacore的

胺偶合套組將人類CD3 $\gamma\epsilon$ 固著於Biacore系列S CM5感測晶片上且抗CD79b/CD3 TDB抗體或其Fab變異體流過。在FACS結合分析中，BJAB細胞(用於B細胞抗原)或所說明的其他細胞株與不同濃度的TDB抗體一起在4°C下培育30分鐘，接著洗滌細胞且與二次抗體(抗huIgG-PE；BD Bioscience)一起培育另外15分鐘，隨後再次洗滌細胞且備妥用於FACS分析。

D. 活體外B細胞殺死及T細胞活化分析

測試所產生之抗CD79b/CD3 TDB抗體支持B細胞殺死及細胞毒性T細胞活化的能力。在此等分析中，藉由Ficoll分離法自健康供者之全血中分離出PBMC。簡言之，用肝素化注射器收集人類血液，且使用Leucosep (Greiner Bio-one，目錄號227290P)及Ficoll Paque Plus (GE Healthcare Biosciences，目錄號95038-168)分離PBMC，如製造商所建議。需要時，使用Miltenyi套組，根據製造商說明書分離CD4+T及CD8+T細胞。

用含有10% FBS、補充有GlutaMax (Gibco，目錄號35050-061)、青黴素及鏈黴素(Gibco，目錄號15140-122)的RPMI培養基洗滌細胞，且將約 0.2×10^6 個懸浮細胞添加至U形底96孔盤中。細胞在補充有10% FBS的RPMI1640 (Sigma-Aldrich)中、在加濕的標準細胞培養物保溫箱中、在37°C培養。在BJAB細胞殺死分析中，除非另外說明，否則將20,000個BJAB細胞與呈huPBMC或純化T細胞形式之效應細胞一起依根據分析指定之比率、在不同濃度的TDB抗體存在下培育24小時。在內源性B細胞殺死分析中，除非另外說明，否則將200,000個huPBMC與不同濃度的抗CD79b/CD3 TDB抗體一起培育24小時。

培養之後，用FACS緩衝液(含有0.5% BSA、0.05%疊氮化鈉的PBS)洗滌細胞。細胞接著用FACS緩衝液染色，用FACS緩衝液洗滌且懸浮於含有1 μ g/ml碘化丙錠的100 μ l FACS緩衝液中。用FACSCalibur

流式細胞儀收集資料且使用FlowJo分析。藉由FACS、以PI-CD19+或PI-CD20+ B細胞形式闡選出活B細胞，且以添加至反應混合物中的FITC珠粒作為內部計數對照來獲得絕對細胞計數。細胞殺死百分比可基於非TDB處理對照來計算。使用抗CD69-FITC (BD，目錄號555530)及抗CD25-PE (BD，目錄號555432)，根據CD69及CD25表面表現來偵測活化T細胞。

D. 活體內功效

50隻SCID.bg小鼠在右單側胸部皮下接種每隻小鼠0.2 mL體積之HBSS中的5百萬個BJAB-luc抗CD79b-MC-vc-PAB-MMAE抗藥性模型T1.1 X1細胞(不超過200 μ l)或0.2 mL體積之HBSS中之5百萬個BJAB-luc抗CD79b-MC-vc-PAB-MMAE抗藥性模型T1.1 X1細胞與10百萬個PBMC之混合物(不超過200 μ l)。此為預防性研究，因此接種及處理係在第0天投與。

存在五個研究組：1) 5百萬個BJAB-luc抗CD79b-MC-vc-PAB-MMAE抗藥性模型T1.1 X1，媒劑，qwx2，IV；2) 5百萬個BJAB-luc抗CD79b-MC-vc-PAB-MMAE抗藥性模型T1.1 X1，0.5 mg/kg抗CD79 TDB，qwx2，IV；3) 5百萬個BJAB-luc抗CD79b-MC-vc-PAB-MMAE抗藥性模型T1.1 X1 + 10×10^6 PBMC (預混合)，媒劑，qwx2，IV；4) 5百萬個BJAB-luc抗CD79b-MC-vc-PAB-MMAE抗藥性模型T1.1 X1 + 10×10^6 PBMC (預混合)，0.5 mg/kg 抗CD79 TDB (CD79b.A7.v14b/38E4v1)，qwx2，IV；及5) 5 BJAB-luc抗CD79b-MC-vc-PAB-MMAE抗藥性模型T1.1 X1，8 mg/kg BJAB-luc抗CD79b-MC-vc-PAB-MMAE，一次，IV。PBMC來自白血球層供者，在非活化條件下培養隔夜，以與BJAB細胞的混合物形式接種。所有處理均為尾靜脈投與(靜脈內)，體積=0.1 mL (不超過200 μ l)。每週量測腫瘤1-2次。每週量測體重1-2次直至最後處理之後的14天。

1. CD79b TDB-抗CD79b抗原臂之選擇

已產生抗體-藥物結合物(ADC)(諸如人類化抗CD79b抗體(人類化SN8)藉由蛋白酶可裂解連接子與單甲基阿瑞他汀E (MMAE)結合)，其在臨床中已顯示可有效治療NHL。參見美國專利第8,088,378號及Morschhauser等人，「4457 Updated Results of a Phase II Randomized Study (ROMULUS) of Polatuzumab Vedotin or Pinatuzumab Vedotin Plus Rituximab in Patients with Relapsed/Refractory Non-Hodgkin Lymphoma」第56屆ASH年度會議及展覽會：2014年12月6日至9日。

基於抗CD79b ADC之臨床成功，人類化SN8抗體呈T細胞依賴性雙特異性(TDB)抗體形式，以利用T細胞之高細胞毒性潛力來根除腫瘤細胞。參見美國專利第8,088,378號，該專利以全文引用的方式併入本文中。抗CD3 (例如UCHT1.v9；參見例如Zhu等人，*Int. J. Cancer* 62: 319-324 (1995))/抗CD79b (例如SN8.v28)雙特異性杵及臼(K&H)如上文所述產生。然而，在如上文所述使用兩個不同供者的內源性B細胞殺死分析中，觀測到UCHT1.v9/SN8.v28雙特異性K&H之B細胞殺死活性不良：細胞殺死分析中的EC₅₀為357 ng/mL且120 ng/mL。

使用2F2作為抗CD79b抗體臂來產生第二抗CD3 (例如UCHT1.v9)/抗CD79b TDB。2F2在活體外已顯示用作抗CD79b ADC的前景。參見例如US20090068202，其以全文引用的方式併入本文中。另外，CD79b臂抗體SN8.v28經修飾以試圖改良細胞殺死(SN8.新 (VH SEQ ID NO: 37及VL SEQ ID NO: 38))。如圖1A (內源性B細胞殺死分析)及圖1B (BJAB細胞殺死分析)中所示，SN8.v28/UCHT1.v9雙特異性K&H抗體、SN8.新/UCHT1.v9雙特異性K&H抗體以及2F2/UCHT1.v9雙特異性K&H抗體產生不良的B細胞殺死活性。

單株抗CD79b抗體如上文所述產生。此等抗CD79b抗體中之兩者(CD79b.F6及CD79b.A7)亦以雙特異性雙fab形式抗CD79b/CD3抗體加

以測試。如圖 1C 中所示，在內源性 B 細胞殺死分析中，相較於 SN8.v28/UCHT1.v9 雙特異性 K&H，CD79b.F6/UCHT1.v9 雙特異性雙 fab 顯示改良之 B 細胞殺死 (EC_{50} 為 33 ng/mL 相較於 189 ng/mL)。另外，如圖 1C 中所示，在內源性 B 細胞殺死分析中，相較於雙特異性雙 fab CD79b.F6/UCHT1.v9 或 SN8.v28/UCHT1.v9 雙特異性 K&H，雙特異性雙 fab CD79b.A7/UHT1.v9 顯著改良 B 細胞殺死 (EC_{50} 12 ng/mL 相較於 33 ng/mL 及 189 ng/mL)。利用其他供者，進一步測試雙特異性雙 fab CD79b.A7/UHT1.v9 的內源性 B 細胞殺死及 CD8+ T 細胞活化。如圖 2A 及 C 中所示，在如上文所述的內源性 B 細胞殺死分析中，使用兩個不同供者之雙特異性雙 fab CD79b.A7/UHT1.v9 引起有效的 B 細胞殺死，其 EC_{50} 分別為 7.0 ng/mL 及 18 ng/mL。同時，如圖 2B 及 D 中所示，在如上文所述的 CD8+ T 細胞活化分析中，雙特異性雙 fab CD79b.A7/UHT1.v9 引起 T 細胞發生有效活化，如 CD8+ T 細胞中之 CD69+CD25+ T 細胞百分比所證明，其中 EC_{50} 分別為 17 ng/mL 及 17 ng/mL。

為了更好地瞭解抗 CD79b/CD3 TDB 抗體中之不同抗 CD79b 抗原臂在 B 細胞殺死及 T 細胞活化方面的差異，分析不同抗 CD79b 抗原臂的特性。在 FACS 分析中，對應於 huCD79b 之 NH_2 末端的 21 胺基酸肽 ARSEDRYRNPKGSACSRIWQS (SEQ ID NO: 63)、而非對應於 cynoCD79b 之 NH_2 末端的 21 胺基酸肽 AKSEDLYPNPKGSACSRIWQS (SEQ ID NO: 64) 與 CD79b.A7 競爭結合至 BJAB 細胞(資料未顯示)。此類似於 2F2 及 SN8 之結果，如 Zheng 等人, *Mol. Cancer Ther.* 8(10): 2937-2947 (2009) 中所述。因此，CD79b 上之抗原決定基似乎不能說明 SN8.v28/UCHT1.v9、2F2/UCHT1.v9 及 CD79.A7 之間在 B 細胞殺死及 T 細胞活化方面的差異。

亦評價單價及二價抗 CD79b 抗體結合親和力以便更好地瞭解對 B

細胞殺死活性的影響(若存在)。亦分析雙臂二價抗CD79b抗體及雙特異性抗CD79b/CD3抗體的結合親和力(使用BJAB細胞)。初始實驗表明，雙臂二價抗CD79b抗體SN8.v28對BJAB細胞的結合親和力(根據 EC_{50})為0.04 $\mu\text{g/mL}$ ，而抗CD79b/CD3雙特異性K&H(SN8.v28/UCHT1.v9)對BJAB細胞的結合親和力(根據 EC_{50})僅為3.7 $\mu\text{g/mL}$ 。類似地，如圖3A中所示，雙臂二價抗CD79b抗體2F2對BJAB細胞的結合親和力(根據 EC_{50})顯著高於抗CD79b/CD3雙特異性K&H(SN8.v28/UCHT1.v9，SN8新/UCHT1.v9，及2F2/UCHT.v9)。其他抗CD79抗體CD79b.F6及CD79b.A7係以雙臂二價抗CD79b抗體形式以及雙fab及K&H雙特異性抗CD79b/CD3抗體來測試結合親和力。如圖3B中所示，雙臂二價抗CD79b抗體CD79.A7對BJAB細胞的結合親和力(EC_{50})為0.31 $\mu\text{g/mL}$ 。雙特異性抗CD79b/CD3 (CD79b.A7/UCHT1.v9)對BJAB細胞的結合親和力(根據 EC_{50})雖然低於雙臂二價抗CD79b抗體CD79.A7，但仍然相對較高，為1.4 $\mu\text{g/mL}$ 。雙臂二價抗CD79b抗體CD79b.F6及K&H及雙fab雙特異性抗CD79b/CD3抗體(分別為SN8.v28/UCHT1.v9及CD79b.F6/UCHT1.v9)對BJAB細胞的結合親和力(根據 EC_{50})顯著較低。基於此資料，單價結合親和力與內源性B細胞耗乏程度及B細胞殺死%相關。

2. 抗CD79b抗原臂之人類化

單株抗體CD79b.A7如上文所述進行人類化。殘基編號係根據Kabat等人, Sequences of proteins of immunological interest, 第5版, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)。

在CD79b.A7人類化期間構築的變異體係以IgG形式加以評估。將來自鼠類CD79b.A7之VL及VH域與人類VL κ II (VLK2)及人類VH亞群I (VHI)共同序列比對。來自鼠類抗體之高變區經工程改造而引入

VLK2及VHI受體構架中。特定言之，將來自muCD79b.A7域的位置24-34 (L1)、50-56 (L2)及89-97 (L3)移植至VLK2中，且將來自muCD79b.A7 VH域的位置26-35 (H1)、50-65 (H2)及93-102 (H3)移植至VHI中。

此章節中之抗體結合親和力係藉由BIAcore™ T100測定。簡言之，BIAcore™研究級CM5晶片係根據供應商說明書，用1-乙基-3-(3-二甲胺基丙基)碳化二亞胺(EDC)及N-羥基丁二醯亞胺(NHS)試劑加以活化。在C末端與Fc域融合的人類CD79a與晶片偶合。為了達成更多的單價結合事件，各流動池中固著約12個反應單位(RU)的低密度。為了量測抗體的表觀親和力，固著約370 RU抗原。未反應之偶合基團用1 M乙醇胺阻斷。在動力學量測中，抗體於PBS-T緩衝液(含有0.05%界面活性劑P20的PBS)中之三倍連續稀釋液在25°C以30 μ l/min之流速注入。使用10 mM甘胺酸(pH 1.7)作為再生緩衝液，流速30 μ l/min，歷時1分鐘。結合速率(k_{on})與解離速率(k_{off})係使用1:1朗格繆爾結合模型(Langmuir binding model, BIAcore™ T100評價軟體2.0版)計算。平衡解離常數(K_d)係以比率 k_{off}/k_{on} 計算。

CD79b.A7之人類化CDR移植物(CD79b.A7.v1)不結合至CD79b。因此，產生其他人類化變異體以評價小鼠構架維尼爾位置(vernier positions)對結合的影響。構建六條其他輕鏈(VL1：CDR移植物 + (Y36L)，VL2：CDR移植物 + (Y36L + L46C)，VL3：CDR移植物 + (I2V + Y36L + L46C)，VL4：CDR移植物 + (Y36L + L46S)，VL5：CDR移植物 + (I2V + Y36L + L46S)，VL6：CDR移植物 + (L46S))及七條其他重鏈(VH1a：CDR移植物 + (A93S)，VH1b：CDR移植物 + (R71V + A93S)，VH1c：CDR移植物 + (V67A + I69L + R71V + A93S)，VH1d：CDR移植物 + (V67A + I69L + R71V + T73K + A93S)，VH1e：CDR移植物 + (V67A + R71V + A93S)，VH1f：CDR

BJAB螢光素酶細胞的結合分別具有124 ng/mL、400 ng/mL及68 ng/mL之EC₅₀。

如上文所述測試單價及二價人類化CD79.A7.v14的結合親和力。如圖3C中所示，單價CD79.A7.v14（呈K&H TDB形式CD79.A7.v14/40G5c）具有220 ng/ml之EC₅₀，而二價雙臂CD79A7.v14具有46.8 ng/ml之EC₅₀。

在熱應力(40°C，pH 5.5，2週)及2,2'-偶氮雙(2-甲脒基丙烷)鹽酸鹽(AAPH)分析下測試人類化抗體CD79.A7.v14。隨後使樣品經受熱壓力以模擬在產物存放期內之穩定性。樣品於20 mM His乙酸鹽、240 mM蔗糖(pH 5.5)中進行緩衝交換且稀釋至1 mg/mL之濃度。一毫升樣品在40°C下經受壓力2週，且第二個樣品在-70°C儲存作為對照。兩個樣品接著使用胰蛋白酶消化以產生肽，可使用液相層析法(LC)-質譜法(MS)分析進行分析。利用MS獲得樣品中各種肽的滯留時間(得自LC)以及高解析度精確質量及肽離子片段化資訊(胺基酸序列資訊)。在+-10 ppm之窗口下，根據資料集，針對所關注之肽(原生及經修飾之肽離子)獲得所萃取離子層析圖(XIC)且對峰進行積分以測定面積。藉由將(經修飾之肽之面積)除以(經修飾之肽之面積加原生肽之面積)乘以100來計算各樣品的相對修飾百分比。

CD79b.A7.v14之CDR-H1中的W33及CDR-H2中的M62顯示易發生氧化(W33氧化增加73.7%且M62氧化增加64.8%)。測試CD79b.A7.v14抗體之變異體以確定是否可減少潛在氧化而不影響對huCD79b的結合。變異體CD79b.A7.v14b藉由改變此等區域以與人類VH1共同序列匹配(W33Y、M62K、K64Q及D65G)來排除此等潛在氧化問題。此等變化不改變CD79b結合親和力。參見未顯示的資料。

3. CD79b TDB-抗CD3抗原臂之選擇

分析CD3結合域配對對抗CD79b抗體B細胞殺死效率的影響。對

抗CD79b.A7.v14抗體與不同抗CD3抗體結合域(包括40G5c及38E4v1)的組合進行測試。200,000 PBMC與或不與抗CD79b/CD3 TDB抗體一起培育48小時。圖5A中之B細胞殺死百分比如下計算： $(\text{無TDB之活B細胞數目} - \text{具有TDB之活B細胞數目}) / (\text{無TDB之活B細胞數目}) \times 100$ 。如圖5B中所示的T細胞活化係藉由對CD8⁺ T細胞群中的CD69⁺/CD25⁺細胞進行閘選來量測。如圖5A及B中所示，K&H CD79b.A7.v14/40G5c顯示不良的CD8⁺ T活化及較低的內源性B細胞殺死百分比。在其他實驗(資料未顯示)中，抗CD79b/CD3 TDB抗體(CD79b.A7.v14/40G5c K&H)對於CD8⁺ T活化顯示1.1及2.3 ng/mL之EC₅₀且對於內源性B細胞殺死顯示2658及288 ng/mL之EC₅₀ (使用兩個不同供者)。相比之下，如圖5A及B中所示，相較於CD79b.A7.v14/40G5c K&H，抗CD79b/CD3 TDB抗體(CD79b.A7.v14/38E4v1 K&H)對於內源性B細胞殺死顯示實質上改良之CD8⁺ T細胞活化及內源性B細胞殺死百分比：EC₅₀為15 ng/mL。在其他實驗(資料未顯示)中，抗CD79b/CD3 TDB抗體(CD79b.A7.v14/40G5c K&H)對於內源性B細胞殺死顯示401、14、1.5、10、12及16 ng/mL之EC₅₀ (使用六個不同供者)。

亦測試抗CD79b/CD3 TDB抗體(CD79b.A7.v14/40G5c K&H)對如上文及圖6圖例中所述之BJAB及WSU-DLCL2細胞株的B細胞殺死及T細胞活化活性。如圖6A及B中所示，抗CD79b/CD3 TDB抗體(CD79b.A7.v14/40G5c K&H)顯示顯著的CD8⁺ T活化及B細胞殺死百分比：對於BJAB B細胞殺死，EC₅₀為85 ng/mL且對於WSU-DLCL2 B細胞殺死，EC₅₀為82 ng/mL。使用BJAB及WSU-DLCL2 B細胞的CD8⁺ T細胞活化之EC₅₀分別為18及39 ng/mL。

測試抗CD79b/CD3 TDB抗體(CD79b.A7.v14b/40G5c K&H)對於如圖7A-B中所述之各種細胞株的B細胞殺死活性。HT細胞株為不表現CD79b的細胞。如下計算B細胞殺死百分比： $(\text{無TDB之活B細胞數目} -$

具有TDB之活B細胞數目)/(無TDB之活B細胞數目)*100。如圖7A中所示，在針對BJAB、WSU-DLCL2及OCI-LY-19細胞之B細胞殺死之劑量反應曲線中，針對OCI-Ly-19、BJAB及WSU-DLCL2B細胞殺死的EC₅₀分別為8.87、2.63及17.41 ng/mL。圖7B顯示5000 ng/ml 抗CD79/CD3 TDB抗體(CD79b.A7.v14b/38E4v1 K&H)對多種細胞株之顯著B細胞殺死(雙重複，平均值±STD)。

對於CD3及CD79b具有雙特異性之所產生TDB抗體的不同功效強調兩個抗體臂對於產生具有高功效之例示性TDB具有關鍵且不可預測的影響。

4. 對於抗CD79b-MC-vc-PAB-MMAE抗藥性B細胞的活體外及活體內功效

亦測試抗CD79b/CD3 TDB抗體(CD79b.A7.v14b/38E4v1)對抗CD79b-MC-vc-PAB-MMAE抗藥性B細胞的活體外及活體內B細胞殺死活性。BJAB細胞變異體(BJAB-CD79b ADC-R T1.1及BJAB-SN8v28vcE CD79b ADC-R T1.2)來源於經抗CD79b-MC-vc-PAB-MMAE抗藥性B細胞處理之小鼠中的無反應BJAB異種移植腫瘤。如圖8A中所示，抗CD79b/CD3 TDB (CD79b.A7.v14b/38E4v1)對於BJAB以及抗CD79b-MC-vc-PAB-MMAE抗藥性BJAB細胞的活體外細胞殺死非常有效。另外，如圖8B中所示，抗CD79b/CD3 TDB抗體(CD79b.A7.v14b/38E4v1)防止活體內抗CD79b-MC-vc-PAB-MMAE抗藥性BJAB腫瘤生長。

雖然前述本發明已藉助於說明及實例較詳細地描述以用於清楚理解之目的，但描述及實例不應解釋為限制本發明之範疇。本文引用的所有專利及科學文獻之揭示內容以全文引用的方式明確併入本文中。

名稱	序列	SEQ ID NO
人類CD79b前驅物； Acc 編號 NP_000617.1 ； 信號序列=胺基酸1至28	RFIARKRGFT VKMHCYMNSA SGNVSWLWKQ EMDENPQQLK LEKGRMEESQ NESLATLTIQ GIRFEDNGIY FCQQKCNNTS EVYQGCSTEL RVMGFSTLAQ LKQRNTLKDG IIMIQTLII LFIIVPIFL LDKDDSKAGM EEDHTYEGLD IDQTATYEDI VTLRTGEVKW SVGEHPGQE	1
無信號序列的人類成熟CD79b； 胺基酸29至229	AR SEDRYRNPKG SACSRIWQSP RFIARKRGFT VKMHCYMNSA SGNVSWLWKQ EMDENPQQLK LEKGRMEESQ NESLATLTIQ GIRFEDNGIY FCQQKCNNTS EVYQGCSTEL RVMGFSTLAQ LKQRNTLKDG IIMIQTLII LFIIVPIFL LDKDDSKAGM EEDHTYEGLD IDQTATYEDI VTLRTGEVKW SVGEHPGQE	2
CD79b.A7, CD79b.A7.v14 CD79b.A7.v15 CD79b.A7.v18 CD79b.A7.v19 CD79b.A7.v20 CD79b.A7.v21 HVR-H1	TYWMN	3
CD79b.A7.v14b HVR-H1	TYYMN	4
共同序列 HVR-H1	TYX ₁ MN，其中X ₁ 為W或Y	5
CD79b.A7, CD79b.A7.v14 CD79b.A7.v15 CD79b.A7.v18 CD79b.A7.v19 CD79b.A7.v20 CD79b.A7.v21 HVR-H2	MIDPSDSETHYNQMFKD	6
CD79b.A7.v14b HVR-H2	MIDPSDSETHYNQKFQG	7
共同序列 HVR-H2	MIDPSDSETHYNQX ₂ FX ₃ X ₄ ，其中X ₂ 為M或K，X ₃ 為K或Q，且X ₄ 為D或G。	8
CD79b.A7, CD79b.A7.v14 CD79b.A7.v14b CD79b.A7.v15 CD79b.A7.v18 CD79b.A7.v19 CD79b.A7.v20 CD79b.A7.v21 HVR-H3	SLAF	9
CD79b.A7, CD79b.A7.v14 CD79b.A7.v14b CD79b.A7.v15 CD79b.A7.v18	KSSQSLLDSDGKTYLN	10

CD79b.A7.v19 CD79b.A7.v20 CD79b.A7.v21 HVR-L1		
CD79b.A7, CD79b.A7.v14 CD79b.A7.v14b CD79b.A7.v15 CD79b.A7.v18 CD79b.A7.v19 CD79b.A7.v20 CD79b.A7.v21 HVR-L2	LVS KLDS	11
CD79b.A7, CD79b.A7.v14 CD79b.A7.v14b CD79b.A7.v15 CD79b.A7.v18 CD79b.A7.v19 CD79b.A7.v20 CD79b.A7.v21 HVR-L3	WQGTHFPQT	12
K2H1 重鏈可變區(V _H)	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYIHWVRQAPG QG LEWIGWINPGSGNTNYAQKFQGRVTITRDTSTSTAYLELSS LRSEDTAVYYCARFDYWGGQGLTVTVSS	13
K2H1 輕鏈可變區(V _L)	DIVMTQTPLSLPVTGQPASISCRSSQSLHSSGNTYLDWYLQK PGQSPQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEADV GVYYCQQAIFPFTFGGQGTKVEIK	14
CD79b.A7 V _H	QVQLQQPGVELVRPGASVKLSCKASGYTFTTYWMNWVRQRP GGGLDWIGMIDPSDSETHYNQMFKDKATLTVDKSSSTAYIQL NSLTSEDSAVYYCSRSLAFWGQGLTVTVSA	15
CD79b.A7 V _L	DVVMQTQTPLTSLVTIGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQ RPGQSPKCLIIYLVSKLDSGVDPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEADV LGYYCQWQGTHTFPQTFGGQGTKLEIK	16
CD79b.A7.v14 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYWMNWVRQAP GGGLEWIGMIDPSDSETHYNQMFKDRATLTVDSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCSRSLAFWGQGLTVTVSS	17
CD79b.A7.v14 V _L	DIVMTQTPLSLPVTGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQK PGQSPQSLIYLVSKLDSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEADV GVYYCQWQGTHTFPQTFGGQGTKVEIK	18
CD79b.A7.v14b V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYWMNWVRQAP GGGLEWIGMIDPSDSETHYNQKFQGRATLTVDSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCSRSLAFWGQGLTVTVSS	19
CD79b.A7.v14b V _L	DIVMTQTPLSLPVTGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQK PGQSPQSLIYLVSKLDSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEADV GVYYCQWQGTHTFPQTFGGQGTKVEIK	20
CD79b.A7.v15 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYWMNWVRQAP GGGLEWIGMIDPSDSETHYNQMFKDRATLTVDSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCSRSLAFWGQGLTVTVSS	21
CD79b.A7.v15 V _L	DVVMQTQTPLSLPVTGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQ KPGQSPQSLIYLVSKLDSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEADV VGVYYCQWQGTHTFPQTFGGQGTKVEIK	22
CD79b.A7.v18 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYWMNWVRQAP GGGLEWIGMIDPSDSETHYNQMFKDRATLTVDKSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCSRSLAFWGQGLTVTVSS	23

CD79b.A7.v18 V _L	DIVMTQTPLSLPVTGPQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQK PGQSPQSLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDV GVYYCWQGTHFPQTFGQGTKVEIK	24
CD79b.A7.v19 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYWMNWRQAP GQGLEWIGMIDPSDSETHYNQMFKDRATLTVDKSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCSRSLAFWGQGTLVTVSS	25
CD79b.A7.v19 V _L	DVVMVTQTPLSLPVTGPQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQ KPGQSPQSLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED VGYYCWQGTHFPQTFGQGTKVEIK	26
CD79b.A7.v20 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYWMNWRQAP GQGLEWIGMIDPSDSETHYNQMFKDRATITVDTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCSRSLAFWGQGTLVTVSS	27
CD79b.A7.v20 V _L	DIVMTQTPLSLPVTGPQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQK PGQSPQSLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDV GVYYCWQGTHFPQTFGQGTKVEIK	28
CD79b.A7.v21 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYWMNWRQAP GQGLEWIGMIDPSDSETHYNQMFKDRVTLTVDTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCSRSLAFWGQGTLVTVSS	29
CD79b.A7.v21 V _L	DIVMTQTPLSLPVTGPQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQK PGQSPQSLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDV GVYYCWQGTHFPQTFGQGTKVEIK	30
SN8.新HVR-H1	SYWIE	31
SN8.新HVR-H2	EILPGGGDTNYNEIFKG	32
SN8.新HVR-H3	RVPIRLDY	33
SN8.新HVR-L1	KASQSVDYDGD SFLN	34
SN8.新HVR-L2	AARKLGR	35
SN8.新HVR-L3	QQSNEDPLT	36
SN8.新V _H	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSSYWIEWVRQAPG KGLEWVGEILPGGGDTNYNEIFKGRFTISADTSKNTAYLQMNS LRAEDTAVYYCTRRVPIRLDYWGQGTLVTVSS	37
SN8.新V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQSVDYDGD SFLN WYQQK PGKAPKLLIYAARKLGRGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDF ATYYCQQSNEDPLTFGQGTKVEIK	38
40G5c HVR-H1	NYYYH	39
40G5c HVR-H2	WIYPGDGNTKYNEKFKG	40
40G5c HVR-H3	DSYSNYYFDY	41
40G5c HVR-L1	KSSQSLLNSRTRKNYLA	42
40G5c HVR-L2	WASTRES	43
40G5c HVR-L3	TQSFILRT	44
38E4v1 HVR-H1	SYYYH	45
38E4v1 HVR-H2	WIYPENDNTKYNEKFKD	46
38E4v1 HVR-H3	DGYSRYYFDY	47
38E4v1 HVR-L1	KSSQSLLNSRTRKNYLA	48
38E4v1 HVR-L2	WTSTRKS	49
38E4v1 HVR-L3	KQSFILRT	50
UCHT1v9 HVR-H1	GYTMN	51
UCHT1v9 HVR-H2	LINPYKGVSTYNQKFKD	52
UCHT1v9 HVR-	SGYYGDS DWYFDV	53

H3		
UCHT1v9 HVR-L1	RASQDIRNYLN	54
UCHT1v9 HVR-L2	YTSRLES	55
UCHT1v9 HVR-L3	QQGNTLPWT	56
40G5c V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYIHWVRQAPGQGLEWIGWIYPGDGNTKYNEKFKGRATLTADTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCARDSSNYFYFDYWGQGTLVTVSS	57
40G5c V _L	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNSRTRKKNYLAWYQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAE DVAVYYCTQSFILRTFGQGTKVEIK	58
38E4v1 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFTSYIHWVRQAPGQGLEWIGWIYPENDNTKYNEKFKDRVTITADTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCARDGYSRYFYFDYWGQGTLVTVSS	59
38E4v1 V _L	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNSRTRKKNYLAWYQKPGQSPKLLIYWTSTRKSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAE DVAVYYCKQSFILRTFGQGTKVEIK	60
UCHT1v9 V _H	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKDLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDKSKNTAYLQMN SLRAEDTAVYYCARSGYYGDS DWYFDVWGQGTLVTVSS	61
UCHT1v9 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGQGTKLELK	62
肽1	ARSEDYRNPKGSACSRIWQS	63
肽2	AKSEDLYPNPKGSACSRIWQS	64

【符號說明】

無

【序列表】

<110> 美商建南德克公司

<120> 抗CD79b抗体及其使用方法

<130> P32464

<140>

<141>

<150> 62/088,487

<151> 2014-12-05

<160> 64

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 179

<212> PRT

<213> 智人

<400> 1

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly Gln Glu

<210> 2
<211> 201
<212> PRT
<213> 智人

<400> 2
Ala Arg Ser Glu Asp Arg Tyr Arg Asn Pro Lys Gly Ser Ala Cys Ser
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Val Gly Glu His Pro Gly Gln Glu
195 200

<210> 3
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
 <221> source
 <223> /註釋=「人工序列之說明：合成肽」

<400> 3
 Thr Tyr Trp Met Asn
 1 5

<210> 4
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> source
 <223> /註釋=「人工序列之說明：合成肽」

<400> 4
 Thr Tyr Tyr Met Asn
 1 5

<210> 5
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> source
 <223> /註釋=「人工序列之說明：合成肽」

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (3)..(3)
 <223> /置換=「Tyr」

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(5)
 <223> /註釋=「序列中所指定之變異型殘基就變異位置之
 註解而言無偏好」

<400> 5
 Thr Tyr Trp Met Asn
 1 5

<210> 6
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> source
 <223> /註釋=「人工序列之說明：合成肽」

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

Asp

<210> 7
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成肽」

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

Gly

<210> 8
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成肽」

<220>
<221> VARIANT
<222> (14)..(14)
<223> /置換=「Lys」

<220>
<221> VARIANT
<222> (16)..(16)
<223> /置換=「Gln」

<220>
<221> VARIANT
<222> (17)..(17)
<223> /置換=「Gly」

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(17)
<223> /註釋=「序列中所指定之變異型殘基就變異位置之
註解而言無偏好」

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

Asp

<210> 9

<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成肽」

<400> 9
Ser Leu Ala Phe
1

<210> 10
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成肽」

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

<210> 11
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成肽」

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

<210> 12
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成肽」

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

<210> 13
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成多肽」

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

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

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

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

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

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

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

<210> 14
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成多肽」

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

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

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

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

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

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

Ile Gln Phe Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

110

<210> 15
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成多肽」

<400> 15
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Val Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

Ala

<210> 16
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成多肽」

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

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

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

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

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

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

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

<210> 17
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成多肽」

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

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

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

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

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

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

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

Ser

<210> 18
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<221> source

<223> /註釋=「人工序列之說明：合成多肽」

<400> 18

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

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

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

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

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

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

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

<210> 19

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> source

<223> /註釋=「人工序列之說明：合成多肽」

<400> 19

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

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

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

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

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

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

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

Ser

<210> 20
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成多肽」

<400> 20
Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

<210> 21
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成多肽」

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

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

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

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

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

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

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

Ser

<210> 22
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成多肽」

<400> 22
Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

<210> 23
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
 <221> source
 <223> /註釋=「人工序列之說明：合成多肽」

<400> 23
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

Ser

<210> 24
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> source
 <223> /註釋=「人工序列之說明：合成多肽」

<400> 24
 Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15

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

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

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

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

65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
 85 90 95

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

<210> 25
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> source
 <223> /註釋=「人工序列之說明：合成多肽」

<400> 25
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

Ser

<210> 26
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> source
 <223> /註釋=「人工序列之說明：合成多肽」

<400> 26
 Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

<210> 27

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> source

<223> /註釋=「人工序列之說明：合成多肽」

<400> 27

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

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

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

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

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

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

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

Ser

<210> 28
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成多肽」

<400> 28
Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30
Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Gln Ser Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
85 90 95
Thr His Phe Pro Gln Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 29
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成多肽」

<400> 29
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Met Ile Asp Pro Ser Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Met Phe
50 55 60

Lys Asp Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ser Arg Ser Leu Ala Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
100 105 110

Ser

<210> 30
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成多肽」

<400> 30
Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30
Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Gln Ser Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
85 90 95
Thr His Phe Pro Gln Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 31
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成肽」

<400> 31

Ser Tyr Trp Ile Glu
1 5

<210> 32
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成肽」

<400> 32
Glu Ile Leu Pro Gly Gly Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Glu Ile Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 33
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成肽」

<400> 33
Arg Val Pro Ile Arg Leu Asp Tyr
1 5

<210> 34
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成肽」

<400> 34
Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Phe Leu Asn
1 5 10 15

<210> 35
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成肽」

<400> 35
Ala Ala Arg Lys Leu Gly Arg
1 5

<210> 36
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成肽」

<400> 36
Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Leu Thr
1 5

<210> 37
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成多肽」

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 38
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成多肽」

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

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

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

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

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

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

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

<210> 39
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成肽」

<400> 39
Asn Tyr Tyr Ile His
1 5

<210> 40
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成肽」

<400> 40
Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 41
<211> 10

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成肽」

<400> 41
Asp Ser Tyr Ser Asn Tyr Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 42
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成肽」

<400> 42
Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Ala

<210> 43
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成肽」

<400> 43
Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 44
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成肽」

<400> 44
Thr Gln Ser Phe Ile Leu Arg Thr
1 5

<210> 45
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
 <221> source
 <223> /註釋=「人工序列之說明：合成肽」

<400> 45
 Ser Tyr Tyr Ile His
 1 5

<210> 46
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> source
 <223> /註釋=「人工序列之說明：合成肽」

<400> 46
 Trp Ile Tyr Pro Glu Asn Asp Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15

Asp

<210> 47
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> source
 <223> /註釋=「人工序列之說明：合成肽」

<400> 47
 Asp Gly Tyr Ser Arg Tyr Tyr Phe Asp Tyr
 1 5 10

<210> 48
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> source
 <223> /註釋=「人工序列之說明：合成肽」

<400> 48
 Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu
 1 5 10 15

Ala

<210> 49
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> source
 <223> /註釋=「人工序列之說明：合成肽」

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

<210> 50
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> source
 <223> /註釋=「人工序列之說明：合成肽」

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

<210> 51
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> source
 <223> /註釋=「人工序列之說明：合成肽」

<400> 51
 Gly Tyr Thr Met Asn
 1 5

<210> 52
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> source
 <223> /註釋=「人工序列之說明：合成肽」

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

Asp

<210> 53
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> source

<223> /註釋=「人工序列之說明：合成肽」

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

<210> 54
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成肽」

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

<210> 55
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成肽」

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

<210> 56
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成肽」

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

<210> 57
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成多肽」

<400> 57
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Ser Tyr Ser Asn Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 58
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成多肽」

<400> 58
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30
Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Gln
85 90 95
Ser Phe Ile Leu Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 59
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成多肽」

<400> 59
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Trp Ile Tyr Pro Glu Asn Asp Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Gly Tyr Ser Arg Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 60
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成多肽」

<400> 60
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30
Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

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

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

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

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

<210> 61
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成多肽」

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 62
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /註釋=「人工序列之說明：合成多肽」

<400> 62

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

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

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

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

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

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

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

<210> 63

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> source

<223> /註釋=「人工序列之說明：合成肽」

<400> 63

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

Arg Ile Trp Gln Ser
20

<210> 64

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> source

<223> /註釋=「人工序列之說明：合成肽」

<400> 64

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

Arg Ile Trp Gln Ser
20

發明摘要

※ 申請案號：104140842

※ 申請日：104.12.4

※IPC 分類：C07K 16/28 (2006.01)
A61K 39/95 (2006.01)
A61P 35/00, 37/02 (2006.01)

【發明名稱】

抗CD79b抗體及其使用方法

ANTI-CD79b ANTIBODIES AND METHODS OF USE

【中文】

本發明提供抗CD79b抗體及其使用方法。

【英文】

The invention provides anti-CD79b antibodies and methods of using the same.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（1）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

申請專利範圍

1. 一種經分離之抗CD79b抗體，其中該抗體包含含有以下六個高變區(HVR)的CD79b結合域：
 - (a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 5之HVR-H1；
 - (b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之HVR-H2；
 - (c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；
 - (d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 10之HVR-L1；
 - (e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L2；及
 - (f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L3。
2. 如請求項1之抗CD79b抗體，其中該CD79b結合域包含以下六個HVR：
 - (a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 3之HVR-H1；
 - (b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 6之HVR-H2；
 - (c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；
 - (d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 10之HVR-L1；
 - (e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L2；及
 - (f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L3。
3. 如請求項1之抗CD79b抗體，其中該CD79b結合域包含以下六個HVR：
 - (a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 4之HVR-H1；
 - (b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之HVR-H2；
 - (c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；
 - (d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 10之HVR-L1；
 - (e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11之HVR-L2；及
 - (f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L3。

4. 如請求項2之抗CD79b抗體，包含(a)與胺基酸序列SEQ ID NO: 17、21、23、25、27或29具有至少95%序列一致性的VH序列；(b)與胺基酸序列SEQ ID NO: 18、22、24、26、28或30具有至少95%序列一致性的VL序列；或(c)如(a)中的VH序列及如(b)中的VL序列。
5. 如請求項3至4中任一項之抗CD79b抗體，包含SEQ ID NO: 17、21、23、25、27或29之VH序列。
6. 如請求項3至4中任一項之抗CD79b抗體，包含SEQ ID NO: 18、22、24、26、28或30之VL序列。
7. 如請求項3之抗CD79b抗體，其包含(a)與胺基酸序列SEQ ID NO: 19具有至少95%序列一致性之VH序列；(b)與胺基酸序列SEQ ID NO: 20具有至少95%序列一致性之VL序列；或(c)如(a)中之VH序列及如(b)中之VL序列。
8. 如請求項3或7中任一項之抗CD79b抗體，包含SEQ ID NO: 19之VH序列。
9. 如請求項3或7中任一項之抗CD79b抗體，包含SEQ ID NO: 20之VL序列。
10. 如請求項1至4及7中任一項之抗CD79b抗體，其中該CD79b結合域結合至SEQ ID NO: 63。
11. 如請求項1至4及7中任一項之抗CD79b抗體，其中該CD79b結合域以雙臂二價IgG抗體形式，以小於約25 nM之Kd，例如小於約10 nM或5 nM中的任一者之Kd結合人類CD79b。
12. 如請求項1至4及7中任一項之抗體，其中該CD79b結合域以單價形式，以小於約1.5 ug/mL之EC₅₀，例如小於約1 ug/mL、0.75 ug/mL、0.5 ug/mL或小於0.25 ug/mL之EC₅₀結合人類CD79b，結合B細胞。

13. 如請求項1至4及7中任一項之抗CD79b抗體，其中該抗CD79b抗體為單株抗體、人類抗體、人類化抗體或嵌合抗體。
14. 如請求項1至4及7中任一項之抗CD79b抗體，其中該抗CD79b抗體為IgG抗體。
15. 如請求項1至4及7中任一項之抗CD79b抗體，其中該抗CD79b抗體為結合CD79b的抗體片段。
16. 如請求項15之抗CD79b抗體，其中該抗CD79b抗體片段為Fab、Fab'-SH、Fv、scFv及/或(Fab')₂片段。
17. 如請求項1至4及7中任一項之抗CD79b抗體，其中該抗CD79b抗體為全長抗體。
18. 如請求項1至4及7中任一項之抗CD79b抗體，其中該抗CD79b抗體包含非糖基化位點突變。
19. 如請求項18之抗CD79b抗體，其中該非糖基化位點突變為取代型突變。
20. 如請求項1至4及7中任一項之抗CD79b抗體，其中該抗CD79b抗體包含降低之效應功能。
21. 如請求項1至4及7中任一項之抗CD79b抗體，其中根據EU編號，該抗CD79b抗體包含位於胺基酸殘基N297、L234、L235及/或D265的取代型突變。
22. 如請求項21之抗CD79b抗體，其中根據EU編號，該取代型突變係選自由N297G、N297A、L234A、L235A及D265A組成之群。
23. 如請求項21之抗CD79b抗體，其中根據EU編號，該抗體包含位於胺基酸殘基297的N297G取代型突變。
24. 如請求項1至4及7中任一項之抗CD79b抗體，其中該抗CD79b抗體為單特異性抗體(例如二價雙臂抗體)。
25. 如請求項1至4及7中任一項之抗CD79b抗體，其中該抗CD79b抗

體為多特異性抗體。

26. 如請求項25之抗CD79b抗體，其中該多特異性抗體包含CD3結合域。
27. 如請求項26之抗CD79b抗體，其中該CD3結合域結合至人類CD3多肽或食蟹獼猴(cyno) CD3多肽。
28. 如請求項27之抗CD79b抗體，其中該人類CD3多肽或該食蟹獼猴CD3多肽分別為人類CD3 ϵ 多肽或食蟹獼猴CD3 ϵ 多肽。
29. 如請求項27之抗CD79b抗體，其中該人類CD3多肽或該食蟹獼猴CD3多肽分別為人類CD3 γ 多肽或食蟹獼猴CD3 γ 多肽。
30. 如請求項26之抗CD79b抗體，其中該CD3結合域包含以下六個HVR：
 - (a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 45之HVR-H1；
 - (b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 46之HVR-H2；
 - (c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 47之HVR-H3；
 - (d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 48之HVR-L1；
 - (e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 49之HVR-L2；及
 - (f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 50之HVR-L3。
31. 如請求項26之抗CD79b抗體，其中該CD3結合域包含(a)與胺基酸序列SEQ ID NO: 59具有至少95%序列一致性的VH序列；(b)與胺基酸序列SEQ ID NO: 60具有至少95%序列一致性的VL序列；或(c)如(a)中的VH序列及如(b)中的VL序列。
32. 如請求項26之抗CD79b抗體，其中該CD3結合域包含SEQ ID NO: 59之VH序列。
33. 如請求項26之抗CD79b抗體，其中該CD3結合域包含SEQ ID NO: 60之VL序列。
34. 如請求項26之抗CD79b抗體，其中該CD3結合域包含以下六個

HVR：

- (a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 39之HVR-H1；
- (b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 40之HVR-H2；
- (c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 41之HVR-H3；
- (d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 42之HVR-L1；
- (e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 43之HVR-L2；及
- (f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 44之HVR-L3。

35. 如請求項26之抗CD79b抗體，其中該CD3結合域包含(a)與胺基酸序列SEQ ID NO: 57具有至少95%序列一致性的VH序列；(b)與胺基酸序列SEQ ID NO: 58具有至少95%序列一致性的VL序列；或(c)如(a)中的VH序列及如(b)中的VL序列。

36. 如請求項26之抗CD79b抗體，其中該CD3結合域包含SEQ ID NO: 57之VH序列。

37. 如請求項26之抗CD79b抗體，其中該CD3結合域包含SEQ ID NO: 58之VL序列。

38. 如請求項26之抗CD79b抗體，其中該CD3結合域包含以下六個HVR：

- (a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 51之HVR-H1；
- (b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 52之HVR-H2；
- (c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 53之HVR-H3；
- (d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 54之HVR-L1；
- (e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 55之HVR-L2；及
- (f)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 56之HVR-L3。

39. 如請求項26之抗CD79b抗體，其中該CD3結合域包含(a)與胺基酸序列SEQ ID NO: 61具有至少95%序列一致性的VH序列；(b)與胺基酸序列SEQ ID NO: 62具有至少95%序列一致性的VL序列；或

(c)如(a)中的VH序列及如(b)中的VL序列。

40. 如請求項26之抗CD79b抗體，其中該CD3結合域包含SEQ ID NO: 61之VH序列。
41. 如請求項26之抗CD79b抗體，其中該CD3結合域包含SEQ ID NO: 62之VL序列。
42. 如請求項25之抗CD79b抗體，其中該多特異性抗體為雙特異性抗體。
43. 如請求項25之抗CD79b抗體，其中該抗CD79b抗體殺死B細胞之EC₅₀小於約100 ng/mL。
44. 如請求項43之抗CD79b抗體，其中該殺死B細胞為內源性殺死B細胞或細胞株殺死B細胞，例如BJAB細胞株、WSU-CLCL2細胞株、OCI-Ly-19細胞株。
45. 如請求項25之抗CD79b抗體，其中該抗CD79b抗體具有之細胞毒性T細胞活化EC₅₀小於約50 ng/mL中任一者。
46. 如請求項26之抗CD79b抗體，其中(a)該CD3結合域包含Fc域，其中根據EU編號，該Fc域包含T366S、L368A、Y407V及N297G取代型突變；及(b)該CD79b結合域包含Fc域，其中根據EU編號，該Fc域包含T366W及N297G取代型突變。
47. 如請求項1至4及7中任一項之抗CD79b抗體，其適用作藥劑。
48. 如請求項1至4及7中任一項之抗CD79b抗體，其用於治療或延遲有需要之個體之B細胞增殖性病變或自體免疫病症之演進。
49. 如請求項1至4及7中任一項之抗CD79b抗體，其用於增強患有B細胞增殖性病變或自體免疫病症之個體的免疫功能。
50. 如請求項48之抗CD79b抗體，其中該B細胞增殖性病變為癌症。
51. 如請求項48之抗CD79b抗體，其中該B細胞增殖性病變為淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(non-Hodgkins lymphoma, NHL)、侵襲性

NHL、復發侵襲性NHL、復發惰性NHL、難治性NHL、難治性惰性NHL、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、小淋巴細胞性淋巴瘤、白血病、毛細胞白血病(HCL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)及/或套細胞淋巴瘤。

52. 一種經分離之核酸，其編碼如請求項1至46中任一項之抗CD79b抗體。
53. 一種載體，其包含如請求項52之經分離核酸。
54. 一種宿主細胞，其包含如請求項53之載體。
55. 一種產生如請求項1至46中任一項之抗CD79b抗體的方法，該方法包含在培養基中培養如請求項54之宿主細胞。
56. 一種免疫結合物，其包含如請求項1至46中任一項之抗CD79b抗體及細胞毒性劑。
57. 一種醫藥組合物，其包含如請求項1至46中任一項之抗CD79b抗體。
58. 一種如請求項1至46中任一項之抗CD79b抗體的用途，係用於製造供治療或延遲細胞增殖性病症或自體免疫病症之演進之藥劑。
59. 一種如請求項1至46中任一項之抗CD79b抗體的用途，係用於製造供增強患有細胞增殖性病症或自體免疫病症之個體之免疫功能之藥劑。
60. 如請求項58至59中任一項之用途，其中該細胞增殖性病症為癌症。
61. 如請求項58至59中任一項之用途，其中該細胞增殖性病症為淋巴瘤、NHL、侵襲性NHL、復發侵襲性NHL、復發惰性NHL、難治性NHL、難治性惰性NHL、CLL、小淋巴細胞性淋巴瘤、白血病、HCL、ALL及/或套細胞淋巴瘤。

62. 如請求項58至59中任一項之用途，其中該藥劑進一步包含或組合使用PD-1軸結合拮抗劑或其他治療劑。
63. 如請求項58至59中任一項之用途，其中該藥劑進一步包含或組合使用糖皮質激素。
64. 如請求項63之用途，其中該糖皮質激素為地塞米松(dexamethasone)。
65. 如請求項58至59中任一項之用途，其中該藥劑進一步包含或組合使用利妥昔單抗(rituximab)。

