



(19) REPUBLIKA HRVATSKA
DRŽAVNI ZAVOD ZA
INTELEKTUALNO VLASNIŠTVO

(10) Identifikator
dokumenta:



HR P20161029 T1

HR P20161029 T1

(12) **PRIJEVOD PATENTNIH ZAHTJEVA
EUROPSKOG PATENTA**

(51) MKP:

A61K 51/10 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
C12N 15/13 (2006.01)
A61K 47/48 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)
G01N 33/574 (2006.01)
A61K 38/05 (2006.01)
A61K 31/537 (2006.01)

(46) Datum objave prijevoda patentnih zahtjeva: 21.10.2016.

(21) Broj predmeta: P20161029T

(22) Datum podnošenja zahtjeva u HR: 16.08.2016.

(86) Broj međunarodne prijave: PCT/US2009030924
Datum podnošenja međunarodne prijave: 14.01.2009.

(96) Broj europske prijave patenta: EP 09707473.6
Datum podnošenja europske prijave patenta: 14.01.2009.

(87) Broj međunarodne objave: WO 2009099728
Datum međunarodne objave: 13.08.2009.

(97) Broj objave europske prijave patenta: EP 2247620 A1
Datum objave europske prijave patenta: 10.11.2010.

(97) Broj objave europskog patenta: EP 2247620 B1
Datum objave europskog patenta: 18.05.2016.

(31) Broj prve prijave: 25137 P
32790 P
54709 P
173465
PCT/US2008/007008

(32) Datum podnošenja prve prijave: 31.01.2008.
29.02.2008.
20.05.2008.
15.07.2008.
15.07.2008.

(33) Država ili organizacija podnošenja prve prijave: US
US
US
US
WO

(73) Nositelj patenta:

(72) Izumitelji:

GENENTECH, INC., 1 DNA Way, South San Francisco, CA 94080, US
Yvonne Chen, 222 8th Avenue 320, San Mateo, CA 94401, US
Mark Dennis, 120 Plymouth Avenue, San Carlos, CA 94070, US
David Dornan, 1058 Shoreline Drive, San Mateo, CA 94404, US
Kristi Elkins, 524 Maple Avenue, South San Francisco, CA 94080, US
Jagath Reddy Junutula, 34391 Tupelo Street, Fremont, CA 94555, US
Andrew Polson, 281 Berkeley Way, San Francisco, CA 94131, US
Bing Zheng, 156 Montelena Court, Mountain View, CA 94040, US
CPZ - CENTAR ZA PATENTE d.o.o., 10000 Zagreb, HR

(74) Zastupnik:

(54) Naziv izuma: PROTUTIJELA ANTI-CD79B I IMUNOKONJUGATI KAO I POSTUPCI NJIHOVE UPORABE

HR P20161029 T1

PATENTNI ZAHTEJVI

1. Protutijelo anti-CD79b cisteinskog inženjeringa, **naznačeno time**, da obuhvaća jednu ili više slobodnih cisteinskih aminokiselina, pri čemu spomenuto protutijelo obuhvaća sekvencu VTVSSCSTKGP uključujući slobodni cisteinski ostatak na poziciji 114 od jakog lanca ili sekvencu GLSSPCTKSFN uključujući slobodni cisteinski ostatak na poziciji 205 od slabog lanca, dok je numeriranje u skladu s Kabat konvencijom o numeriranju i gdje spomenuto protutijelo anti-CD79b obuhvaća sljedeće:
 - a. varijabilnu domenu jakog lanca koja sadrži HVR1-H1, HVR-H2 i HVR-H3 od SEQ ID NO:202-204 i varijabilnu domenu slabog lanca koja sadrži HVR-L1, HVR-L2 i HVR-L3 od SEQ ID NO:194-196; ili
 - b. varijabilnu domenu jakog lanca koja sadrži HVR1-H1, HVR-H2 i HVR-H3 od SEQ ID NO:164-166 i varijabilnu domenu slabog lanca koja sadrži HVR-L1, HVR-L2 i HVR-L3 od SEQ ID NO:156-158; ili
 - c. varijabilnu domenu jakog lanca koja sadrži HVR1-H1, HVR-H2 i HVR-H3 od SEQ ID NO:183-185 i varijabilnu domenu slabog lanca koja sadrži HVR-L1, HVR-L2 i HVR-L3 od SEQ ID NO:175-177; ili
 - d. varijabilnu domenu jakog lanca koja sadrži HVR1-H1, HVR-H2 i HVR-H3 od SEQ ID NO:221-223 i varijabilnu domenu slabog lanca koja sadrži HVR-L1, HVR-L2 i HVR-L3 od SEQ ID NO:213-215.
2. Protutijelo anti-CD79b cisteinskog inženjeringa prema zahtjevu 1, **naznačeno time**, da spomenuto protutijelo obuhvaća sekvencu VTVSSCSTKGP uključujući slobodni cisteinski ostatak na poziciji 114 od jakog lanca.
3. Protutijelo anti-CD79b cisteinskog inženjeringa prema zahtjevu 1, **naznačeno time**, da spomenuto protutijelo obuhvaća sekvencu GLSSPCTKSFN uključujući slobodni cisteinski ostatak na poziciji 205 od slabog lanca.
4. Protutijelo anti-CD79b cisteinskog inženjeringa prema zahtjevu 1, **naznačeno time**, da varijabilna domena slabog lanca sadrži sekvencu SEQ ID NO:207 i varijabilna domena jakog lanca sadrži sekvencu SEQ ID NO:208.
5. Protutijelo anti-CD79b cisteinskog inženjeringa prema zahtjevu 1, **naznačeno time**, da spomenuto protutijelo obuhvaća slabi lanac koji sadrži sekvencu SEQ ID NO:233 i jaki lanac koji sadrži sekvencu SEQ ID NO:232.
6. Protutijelo anti-CD79b cisteinskog inženjeringa prema zahtjevu 1, **naznačeno time**, da protutijelo nadalje obuhvaća slobodni cisteinski aminokiselinski ostatak smješten na jednoj ili više pozicija odabranih od 5, 23, 84 i 112 od jakog lanca prema Kabat konvenciji o numeriranju ili od 120, 282, 375 i 400 od jakog lanca prema EU konvenciji o numeriranju.
7. Protutijelo anti-CD79b cisteinskog inženjeringa prema zahtjevu 6, **naznačeno time**, da protutijelo nadalje obuhvaća jednu ili više od sljedećih:
 SEQ ID NO:251 uključujući slobodni cisteinski ostatak na poziciji 5 od jakog lanca;
 SEQ ID NO:252 uključujući slobodni cisteinski ostatak na poziciji 23 od jakog lanca;
 SEQ ID NO:253 uključujući slobodni cisteinski ostatak na poziciji 84 od jakog lanca;
 SEQ ID NO:254 uključujući slobodni cisteinski ostatak na poziciji 112 od jakog lanca;
 SEQ ID NO:256 uključujući slobodni cisteinski ostatak na poziciji 116 od jakog lanca;
 SEQ ID NO:257 uključujući slobodni cisteinski ostatak na poziciji 278 od jakog lanca;
 SEQ ID NO:258 uključujući slobodni cisteinski ostatak na poziciji 371 od jakog lanca;
 SEQ ID NO:259 uključujući slobodni cisteinski ostatak na poziciji 396 od jakog lanca;
 pri čemu je numeriranje u skladu s Kabat konvencijom o numeriranju.
8. Protutijelo anti-CD79b cisteinskog inženjeringa prema zahtjevu 1, **naznačeno time**, da protutijelo nadalje obuhvaća slobodni cisteinski aminokiselinski ostatak smješten na jednoj ili više pozicija odabranih od 15, 110, 114, 121, 127 i 168 od slabog lanca prema Kabat konvenciji o numeriranju.
9. Protutijelo anti-CD79b cisteinskog inženjeringa prema zahtjevu 8, **naznačeno time**, da protutijelo nadalje obuhvaća jednu ili više od sljedećih:
 SEQ ID NO:278 uključujući slobodni cisteinski ostatak na poziciji 15 od slabog lanca;
 SEQ ID NO:279 uključujući slobodni cisteinski ostatak na poziciji 110 od slabog lanca;
 SEQ ID NO:280 uključujući slobodni cisteinski ostatak na poziciji 114 od slabog lanca;
 SEQ ID NO:281 uključujući slobodni cisteinski ostatak na poziciji 121 od slabog lanca;
 SEQ ID NO:282 uključujući slobodni cisteinski ostatak na poziciji 127 od slabog lanca;
 SEQ ID NO:283 uključujući slobodni cisteinski ostatak na poziciji 168 od slabog lanca;
 pri čemu je numeriranje u skladu s Kabat konvencijom o numeriranju.
10. Protutijelo anti-CD79b cisteinskog inženjeringa prema zahtjevu 1, **naznačeno time**, da se protutijelo pripravlja putem postupka koji obuhvaća zamjenu s cisteinom za jednog ili više aminokiselinskih ostataka od matičnog protutijela anti-CD79b i pritom matično protutijelo obuhvaća sekvencu jakog lanca koja je odabrana od sljedećih:
 SEQ ID NO:308, SEQ ID NO:304, SEQ ID NO:306 i SEQ ID NO:310, i/ili
 sekvencu slabog lanca koja je odabrana od sljedećih: SEQ ID NO:307,
 SEQ ID NO:303, SEQ ID NO:305 i SEQ ID NO:309.
11. Polinukleotid, **naznačen time**, da kodira protutijelo prema bilo kojem od prethodnih zahtjeva.
12. Vektor, **naznačen time**, da obuhvaća polinukleotid prema zahtjevu 11.
13. Stanica domaćina, **naznačena time**, da obuhvaća vektor prema zahtjevu 12.
14. Stanica domaćina prema zahtjevu 13, **naznačena time**, da je stanica domaćina prokariotska stanica domaćina.
15. Protutijelo anti-CD79b cisteinskog inženjeringa prema bilo kojem od zahtjeva 1 do 10, **naznačeno time**, da je

protutijelo kovalentno priključeno preko jedne ili više slobodnih cisteinskih aminokiselina na skupinu za označavanje ili na kruti nosač.

16. Protutijelo anti-CD79b cisteinskog inženjeringa prema bilo kojem od zahtjeva 1 do 10, **naznačeno time**, da je protutijelo kovalentno priključeno preko jedne ili više slobodnih cisteinskih aminokiselina na sredstvo za sprečavanje rasta ili na citotoksično sredstvo, pri čemu se stvara konjugat protutijelo-lijek.
17. Protutijelo anti-CD79b cisteinskog inženjeringa prema bilo kojem od zahtjeva 1 do 10, **naznačeno time**, da je protutijelo kovalentno priključeno na skupinu lijeka, pri čemu se stvara konjugat protutijelo-lijek.
18. Protutijelo anti-CD79b cisteinskog inženjeringa prema zahtjevu 17, **naznačeno time**, da ono obuhvaća protutijelo anti-CD79b cisteinskog inženjeringa (Ab) i skupinu lijeka (D), pri čemu je protutijelo anti-CD79b cisteinskog inženjeringa priključeno preko jedne ili više slobodnih cisteinskih aminokiselina pomoću povezne skupine (L) na D; pri čemu spoj ima sljedeću formulu I:



gdje p je 1, 3, 4 ili poželjno 2.

19. Protutijelo anti-CD79b cisteinskog inženjeringa prema zahtjevu 18, **naznačeno time**, da L je:



gdje:

A je rastezna jedinica koja je kovalentno priključena na cistein-tiol od protutijela cisteinskog inženjeringa (Ab);

a je 0 ili 1;

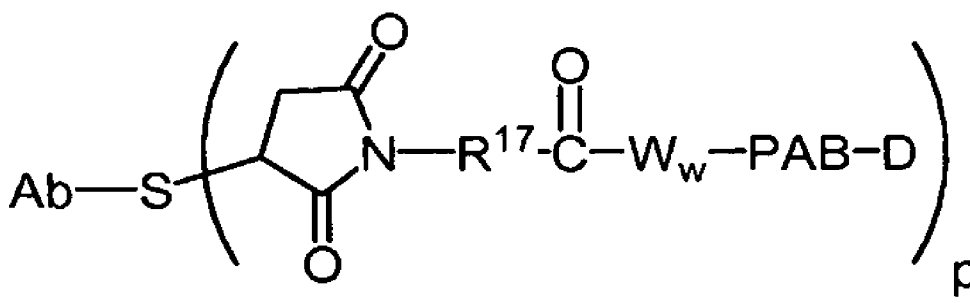
svaki W je neovisno jedna aminokiselinska jedinica;

w je cijeli broj u rasponu od 0 do 12;

Y je razdvojna jedinica koja je kovalentno priključena na skupinu lijeka; i

Y je 0, 1 ili 2.

20. Protutijelo anti-CD79b cisteinskog inženjeringa prema bilo kojem od zahtjeva 17 do 19, **naznačeno time**, da je skupina lijeka (D) odabrana iz skupine koju čine majtanzinoid, auristatin i dolostatin.
21. Protutijelo anti-CD79b cisteinskog inženjeringa prema zahtjevu 18, **naznačeno time**, da je skupina lijeka (D) odabrana iz skupine koju čine majtanzinoid i auristatin.
22. Protutijelo anti-CD79b cisteinskog inženjeringa prema zahtjevu 21, **naznačeno time**, da konjugat protutijelo-lijek ima sljedeću formulu:



pri čemu PAB je para-aminobenzilkarbamoi, i R^{17} je divalentni radikal odabran od sljedećih: $(\text{CH}_2)_r$, C_3 - C_8 -karbociklil, $\text{O}-(\text{CH}_2)_r$ -arilen, $(\text{CH}_2)_r$ -arilen,

-arilen- $(\text{CH}_2)_r$ -, $(\text{CH}_2)_r$ -(C_3 - C_8 -karbociklil), (C_3 - C_8 -karbociklil)- $(\text{CH}_2)_r$ -,

C_3 - C_8 -heterociklil, $(\text{CH}_2)_r$ -(C_3 - C_8 -heterociklil), (C_3 - C_8 -heterociklil)- $(\text{CH}_2)_r$ -,

- $(\text{CH}_2)_r\text{C}(\text{O})\text{NR}^b(\text{CH}_2)_r$ -, - $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_r$ -, - $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_r\text{CH}_2$ -,

- $(\text{CH}_2)_r\text{C}(\text{O})\text{NR}^b(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_r$ -, - $(\text{CH}_2)_r\text{C}(\text{O})\text{NR}^b(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_r\text{CH}_2$ -,

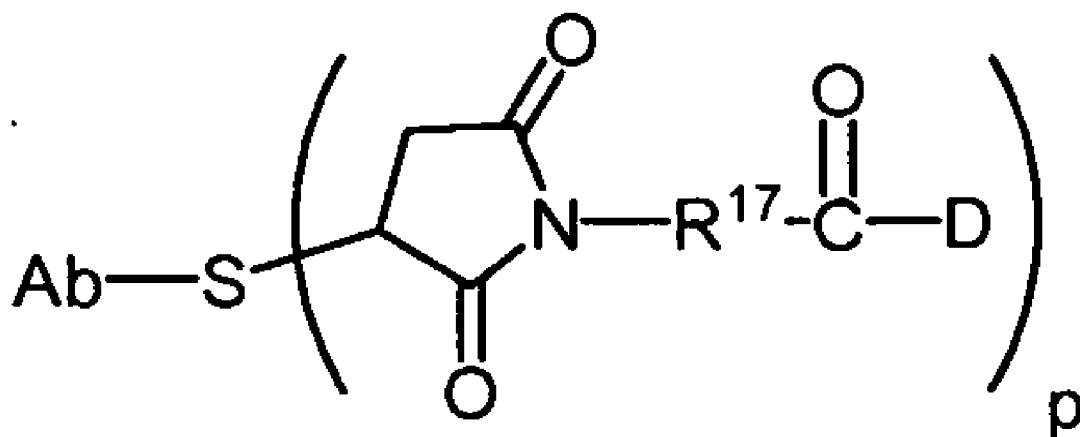
- $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_r\text{C}(\text{O})\text{NR}^b(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_r$ -, - $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_r\text{C}(\text{O})\text{NR}^b(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_r\text{CH}_2$ -, i

- $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_r\text{C}(\text{O})\text{NR}^b(\text{CH}_2)_r$; gdje R^b je H, C_1 - C_6 -alkil, fenil ili benzil; i

r je neovisno cijeli broj u rasponu od 1 do 10.

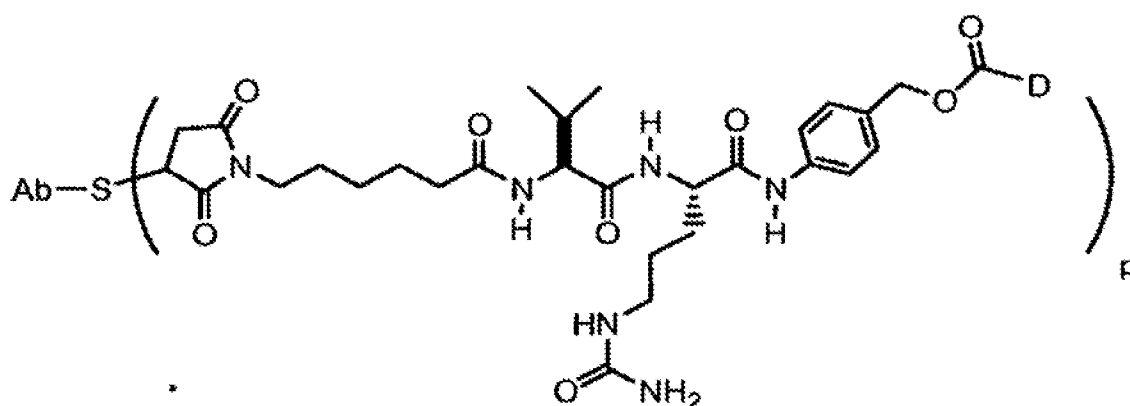
23. Protutijelo anti-CD79b cisteinskog inženjeringa prema zahtjevu 22, **naznačeno time**, da W_w je valin-citrulin.

24. Protutijelo anti-CD79b cisteinskog inženjeringa prema zahtjevu 21, **naznačeno time**, da ima sljedeću formulu:



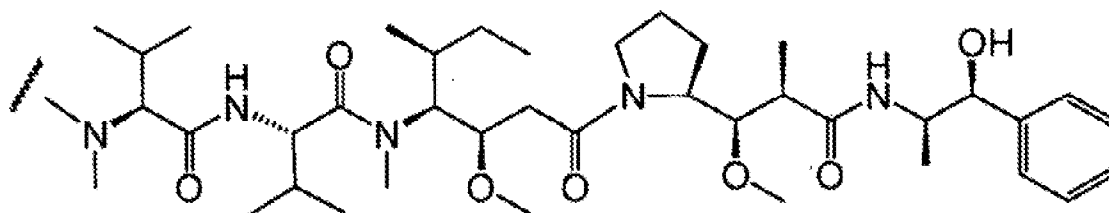
25. Protutijelo anti-CD79b cisteinskog inženjeringa prema zahtjevu 24, **naznačeno time**, da R^{17} je $(CH_2)_5$ ili $(CH_2)_2$.
 26. Protutijelo anti-CD79b cisteinskog inženjeringa prema zahtjevu 24, **naznačeno time**, da ima sljedeću formulu:

5



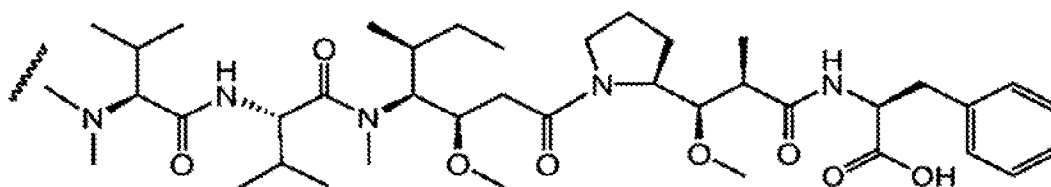
27. Protutijelo anti-CD79b cisteinskog inženjeringa prema zahtjevu 24, **naznačeno time**, da L je SMCC, SPP, SPDB ili BMPEO.
 28. Protutijelo anti-CD79b cisteinskog inženjeringa prema zahtjevu 18, **naznačeno time**, da D je ili MMAE, koja posebno ima sljedeću strukturu:

10



- gdje valovita linija označava mjesto priključenja na poveznju skupinu L;
 ili MMAF koja posebno ima sljedeću strukturu:

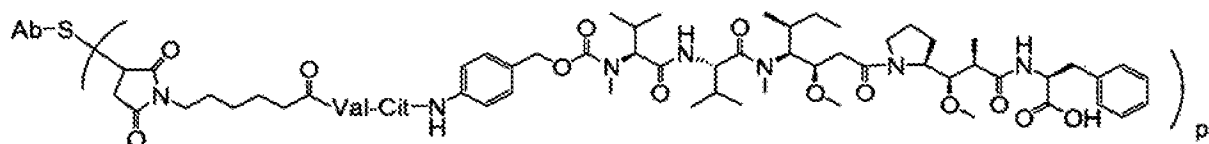
15



- gdje valovita linija označava mjesto priključenja na poveznju skupinu L.

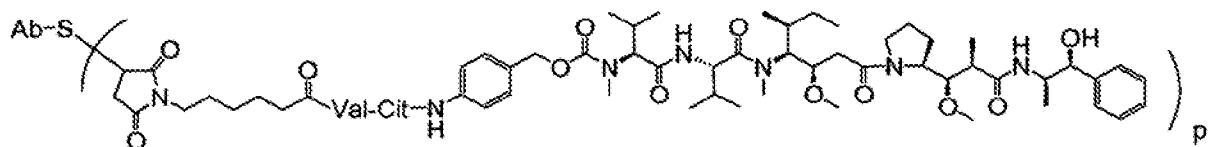
20

29. Konjugat protutijelo-lijek, **naznačen time**, da je to spoj odabran od sljedećih struktura:



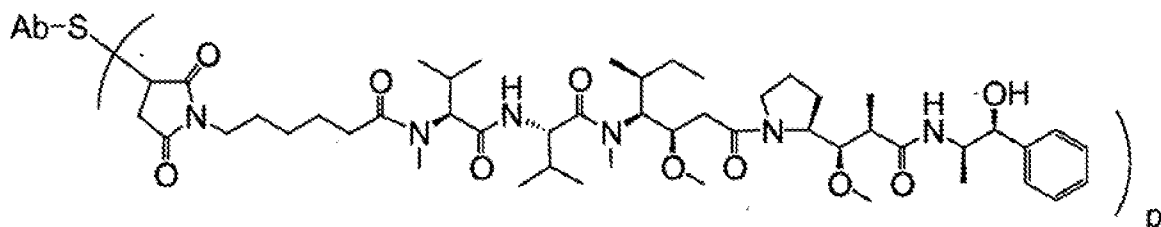
Ab-MC-vc-PAB-MMAF

gdje Val je valin; Cit je citrulin; p je 1, 2, 3 ili 4;



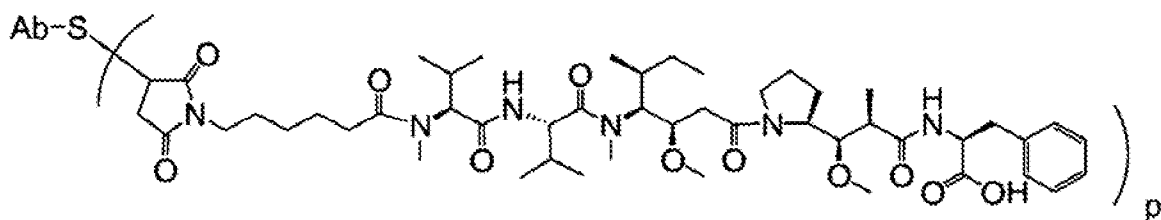
Ab-MC-vc-PAB-MMAE

gdje Val je valin; Cit je citrulin; p je 1, 2, 3 ili 4;



Ab-MC-MMAE

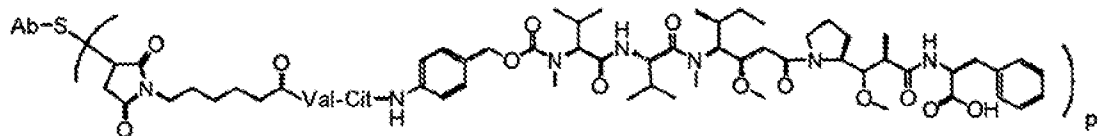
gdje Val je valin; Cit je citrulin; p je 1, 2, 3 ili 4;
ili



Ab-MC-MMAF

gdje Val je valin; Cit je citrulin; p je 1, 2, 3 ili 4; i Ab je protutijelo prema bilo kojem od zahtjeva 1 do 10 i pritom se protutijelo konjugira kroz jednu ili više slobodnih cisteinskih aminokiselina.

30. Konjugat protutijelo-lijek prema zahtjevu 29, **naznačen time**, da obuhvaća sljedeću strukturu:



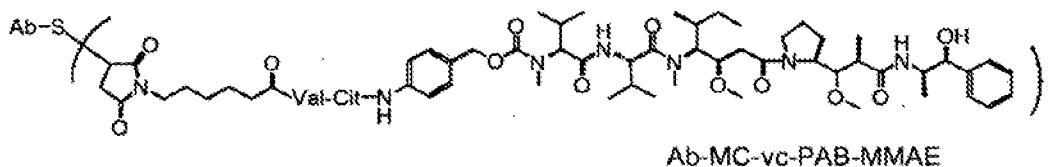
Ab-MC-vc-PAB-MMAF

gdje Val je valin; Cit je citrulin; p je 1, 2, 3 ili 4; pri čemu protutijelo je jedno protutijelo prema bilo kojem od zahtjeva 1 do 10, i pritom se protutijelo konjugira kroz jednu ili više slobodnih cisteinskih aminokiselina.

31. Konjugat protutijelo-lijek prema zahtjevu 30, **naznačen time**, da protutijelo je jedno protutijelo prema zahtjevu 2.

32. Konjugat protutijelo-lijek prema zahtjevu 31, **naznačen time**, da protutijelo je jedno protutijelo prema zahtjevu 3.

33. Konjugat protutijelo-lijek prema zahtjevu 29, **naznačen time**, da spoj obuhvaća sljedeću strukturu:



gdje Val je valin; Cit je citrulin; p je 1, 2, 3 ili 4; pri čemu protutijelo je jedno protutijelo prema bilo kojem od zahtjeva 1 do 10, i pritom se protutijelo konjugira kroz jednu ili više slobodnih cisteinskih aminokiselina.

34. Konjugat protutijelo-lijek prema zahtjevu 33, **naznačen time**, da protutijelo je jedno protutijelo prema zahtjevu 2.
35. Konjugat protutijelo-lijek prema zahtjevu 33, **naznačen time**, da protutijelo je jedno protutijelo prema zahtjevu 3.
36. Konjugat protutijelo-lijek prema zahtjevu 33, **naznačen time**, da protutijelo je jedno protutijelo prema zahtjevu 4.
37. Konjugat protutijelo-lijek prema zahtjevu 33, **naznačen time**, da protutijelo je jedno protutijelo prema zahtjevu 5.
38. Protutijelo anti-CD79b cisteinskog inženjeringa prema bilo kojem od zahtjeva 1 do 10, ili spoj konjugata protutijelo-lijek prema bilo kojem od zahtjeva 16 do 37, **naznačen/o time**, da se matično protutijelo anti-CD79b odabire od sljedećih: monoklonalno protutijelo, bispecifično protutijelo, kimerno protutijelo, ljudsko protutijelo, humanizirano protutijelo i fragment protutijela, poželjno Fab-fragment.
39. Konjugat protutijelo-lijek prema zahtjevu 29, **naznačen time**, da se protutijelo pripravlja putem postupka koji obuhvaća zamjenu s cisteinom za jednog ili više aminokiselinskih ostataka od matičnog protutijela anti-CD79b, pri čemu matično protutijelo obuhvaća sljedeće:
 - i) SEQ ID NO:307 i SEQ ID NO:308;
 - ii) SEQ ID NO:303 i SEQ ID NO:304;
 - iii) SEQ ID NO:305 i SEQ ID NO:306; ili
 - iv) SEQ ID NO:309 i SEQ ID NO:310.
40. Farmaceutska formulacija, **naznačena time**, da obuhvaća protutijelo anti-CD79b cisteinskog inženjeringa prema bilo kojem od zahtjeva 1 do 10, ili konjugat protutijelo-lijek prema bilo kojem od zahtjeva 16 do 39, i farmaceutski prihvatljiv razrjeđivač, nosač ili pomoćno sredstvo, te opcijski također terapijski učinkovitu količinu kemoterapeutskog sredstva.
41. Postupak određivanja prisutnosti CD79b-proteina u uzorku za kojega se očekuje da sadrži navedeni protein, **naznačen time**, da spomenuti postupak obuhvaća izlaganje navedenog uzorka protutijelu anti-CD79b cisteinskog inženjeringa prema bilo kojem od zahtjeva 1 do 10, ili 15 do 39, i određivanje vezanja spomenutog protutijela na spomenuti CD79b-protein u navedenom uzorku, pri čemu vezanje protutijela na spomenuti protein ukazuje na prisutnost spomenutog proteina u navedenom uzorku.
42. Postupak prema zahtjevu 41, **naznačen time**, da se spomenuto protutijelo kovalentno priključuje na oznaku koja je odabrana od fluorescentne boje, radioizotopa, biotina ili liganda metalnog kompleksiranja; ili time, da navedeni uzorak sadrži stanicu za koju se očekuje eksprimiranje spomenutog CD79b-proteina, ili time, da je spomenuta stanica hematopoiezna stanica raka.
43. Testiranje koje se provodi na biološkom uzorku za otkrivanje stanica raka, **naznačeno time**, da obuhvaća sljedeće:
 - (a) izlaganje stanica protutijelu prema bilo kojem od zahtjeva 1 do 10 ili 15 do 39; i
 - (b) otkrivanje vezanja protutijela sa stanicama;
 pri čemu su stanice poželjno hematopoiezne tumorske stanice.
44. Testiranje prema zahtjevu 43, **naznačeno time**, da otkrivanje je kvantitativno.
45. Testiranje prema zahtjevu 43, **naznačeno time**, da otkrivanje je kvalitativno.
46. Postupak inhibiranja stanične proliferacije, **naznačen time**, da obuhvaća obradu ex vivo tumorskih stanica sisavca sa spojem konjugata protutijelo-lijek prema bilo kojem od zahtjeva 16 do 39, pri čemu se inhibira proliferacija tumorskih stanica, dok su tumorske stanice sisavca poželjno hematopoiezne tumorske stanice.
47. Protutijelo prema bilo kojem od zahtjeva 1 do 10, konjugat protutijelo-lijek prema bilo kojem od zahtjeva 16 do 39, ili farmaceutska formulacija prema zahtjevu 40, **naznačen/o/a time**, da se upotrebljava u postupku liječenja raka, pri čemu je poželjno rak odabran iz skupine koju čine: limfom, mijelom, non-Hodgkins-limfom (NHL), difuzni limfom velikih B-stanica, agresivni NHL, indolentni NHL, folikularni limfom, povratni agresivni NHL, povratni indolentni NHL, uporni NHL, uporni indolentni NHL, kronična limfocitna leukemija (CLL), limfom malih limfocita, leukemija, leukemija kosmatih stanica (HCL), akutna limfocitna leukemija (ALL) i limfom plaštenih stanica.
48. Protutijelo, konjugat protutijelo-lijek ili farmaceutska formulacija za uporabu prema zahtjevu 47, **naznačen/o/a time**, da postupak obuhvaća primjenu terapijskog sredstva na pacijentu u kombinaciji sa spojem konjugata protutijelo-lijek.
49. Protutijelo, konjugat protutijelo-lijek ili farmaceutska formulacija za uporabu prema zahtjevu 48, **naznačen/o/a time**, da je terapijsko sredstvo odabrano iz skupine koju čine: tamoksifen, letrozol, eksemestan, anastrozol, irinotekan, cetuksimab, fulvestrant, vinorelbin, erlotinib, bevacizumab, vinkristin, imatinib-mesilat, sorafenib, lapatinib ili trastuzumab, cisplatin, gemcitabin, metotreksat, vinblastin, karboplatin, paklitaksel, 5-fluorouracil, doksorubicin, bortezomib, melfalan, prednison ili docetaksel.
50. Protutijelo, konjugat protutijelo-lijek ili farmaceutska formulacija za uporabu prema zahtjevu 48, **naznačen/o/a**

time, da terapeutsko sredstvo je protutijelo anti-CD20.

51. Protutijelo, konjugat protutijelo-lijek ili farmaceutska formulacija za uporabu prema zahtjevu 49 ili zahtjevu 50, **naznačen/o/a time**, da postupak nadalje obuhvaća primjenu jednog ili više ciklofosfamida, hidroksidaunorubicin, adriamicin i doksorubicin.

52. Postupak proizvodnje spoja konjugata protutijelo-lijek koji obuhvaća protutijelo anti-CD79b cisteinskog inženjeringa (Ab) prema bilo kojem od zahtjeva 1 do 10 i skupinu lijeka auristatina (D), pri čemu se protutijelo cisteinskog inženjeringa priključuje preko jedne ili više aminokiselina cisteinskog inženjeringa pomoću povezne skupine (L) na D; dok spoj ima sljedeću formulu I:



gdje p je 1, 2, 3 ili 4;

naznačen time, da postupak obuhvaća sljedeće korake:

(a) reakcija skupine cisteinskog inženjeringa od protutijela cisteinskog inženjeringa s poveznim reagensom u svrhu tvorbe intermedijera protutijelo-poveznica Ab-L; i

(b) reakcija Ab-L s aktiviranom skupinom lijeka D; čime se stvara konjugat protutijelo-lijek; ili obuhvaća sljedeće korake:

(c) reakcija nukleofilne skupine od skupine lijeka s poveznim reagensom u svrhu tvorbe intermedijera lijek-poveznica D-L; i

(d) reakcija D-L sa skupinom cisteinskog inženjeringa od protutijela cisteinskog inženjeringa; čime se stvara konjugat protutijelo-lijek; pri čemu postupak opcijski obuhvaća korak ekspresije protutijela cisteinskog inženjeringa u stanice jajnika kineskog hrčka (CHO).

53. Postupak prema zahtjevu 52, **naznačen time**, da postupak nadalje obuhvaća korak obrade eksprimiranog protutijela cisteinskog inženjeringa sa sredstvom za smanjivanje, pri čemu je sredstvo za smanjivanje poželjno odabrano od TCEP i DTT.

54. Postupak prema zahtjevu 53, **naznačen time**, da postupak nadalje obuhvaća korak obrade eksprimiranog protutijela cisteinskog inženjeringa s oksidacijskim sredstvom, nakon obrade sa sredstvom za smanjivanje, pri čemu je oksidacijsko sredstvo poželjno odabrano od bakrenog sulfata, dehidroaskorbinske kiseline i zraka.