

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 744 540**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 47/50 (2007.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 35/02 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.12.2015 PCT/US2015/063902**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.06.2016 WO16090210**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.12.2015 E 15816323 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.07.2019 EP 3227336**

54 Título: **Anticuerpos anti-CD79b y procedimientos de uso**

30 Prioridad:

05.12.2014 US 201462088487 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

25.02.2020

73 Titular/es:

F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (100.0%)

Grenzacherstrasse 124

4070 Basel , CH

72 Inventor/es:

SUN, LIPING L.;

CHEN, YVONNE MAN-YEE;

DENNIS, MARK S.;

EBENS, ALLEN J. JR. y

POLSON, ANDREW

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 744 540 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Anticuerpos anti-CD79b y procedimientos de uso

5 REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUD RELACIONADA

CAMPO DE LA INVENCION

10 La presente invención se refiere a anticuerpos anti-CD79b, incluyendo anticuerpos anti-CD79b que comprenden un dominio de unión a CD3 (por ejemplo, el anticuerpo biespecífico dependiente de linfocitos T (TDB) anti-CD79b/CD3), y a procedimientos de uso de los mismos.

ANTECEDENTES

15 Los trastornos proliferativos celulares, tales como cáncer, se caracterizan por el crecimiento incontrolado de subpoblaciones celulares. Son la causa principal de muerte en el mundo desarrollado y la segunda causa principal de muerte en los países en desarrollo, con más de 12 millones de nuevos casos de cáncer diagnosticados y produciéndose 7 millones de muertes por cáncer cada año. El Instituto Nacional del Cáncer estima que más de medio millón de estadounidenses morirán de cáncer en 2013, lo que representa casi una de cada cuatro muertes en el país.

20 A medida que la población anciana ha envejecido, la incidencia de cáncer ha aumentado simultáneamente, ya que la probabilidad de desarrollar cáncer es más de dos veces más alta después de los setenta años. Por tanto, la prevención y tratamiento del cáncer representa una carga social importante y cada vez mayor.

25 CD79b es el componente de señalización del receptor de linfocitos B y actúa como un heterodímero covalente que contiene CD79a (es decir, Ig α o mb-1) y CD79b (es decir, Ig β o B29). CD79b contiene un dominio de inmunoglobulina (Ig) extracelular, un dominio transmembranario y un dominio de señalización intracelular, un dominio con motivo de activación del inmunorreceptor basado en tirosina (ITAM). Usando citometría de flujo, se ha detectado la expresión en la superficie de CD79b en casi todos los pacientes con linfoma no hodgkiniano (LNH) y leucemia linfocítica crónica (LLC). Dornan *et al.*, *Blood* 114(13):2721-9 (2009). Además de sus funciones de señalización, cuando el receptor de linfocitos B está reticulado, se selecciona como diana para el compartimento del complejo principal de histocompatibilidad de clase II, un compartimento similar a un lisosoma, como parte de la presentación antigénica por la clase II por los linfocitos B. El documento WO2009/099728 describe anticuerpos anti-CD79b humanizados y conjugados anticuerpo-fármaco (CAF) de los mismos útiles para el tratamiento de tumores hematopoyéticos. Se proponen formas biespecíficas, con un brazo que se une a CD3. Las variantes humanizadas del anticuerpo murino se conjugaron con DM1 y mostraron propiedades de destrucción tumoral *in vivo*. El documento WO2009/099179 describe anticuerpos anti-CD79b humanizados y CAF de los mismos útiles para el tratamiento de tumores hematopoyéticos. El documento WO2009/12256 describe el anticuerpo anti-CD79b humanizado 2F2 y CAF del mismo útiles para el tratamiento de tumores hematopoyéticos. El documento WO2014/011521 describe anticuerpos anti-CD79b humanizados y CAF de los mismos útiles para el tratamiento de tumores hematopoyéticos. Polson *et al.*, *Blood*, vol. 110, n.º 2, pp. 616-623 (2007) describen CAF de anti-CD79b en los que el anticuerpo se conjuga con MMAE o DM1 para el tratamiento del LNH.

30

35

40

45 Este rasgo característico de la biología de CD79b le convierte en una diana particularmente atractiva para el uso de CAF porque los anticuerpos frente a CD79b se internalizan y envían a estos compartimentos lisosómicos, que se sabe que contienen proteasas que pueden liberar el fármaco citotóxico. Por lo tanto, se han generado conjugados anticuerpo-fármaco (CAF) (tales como el anticuerpo anti-CD79b humanizado (SN8 humanizado) conjugado con monometilauristatina E (MMAE) mediante un conector escindible de proteasa), que han demostrado ser clínicamente eficaces para el tratamiento del LNH. Véanse, por ejemplo, la patente de EE. UU. n.º 8.088.378 y Morschhauser *et al.*, "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", 56.º congreso y presentación anuales de la ASH: 6-9 de diciembre de 2014. A pesar de los avances en el tratamiento del LNH y de la LLC que usan tratamientos con CAF de anti-CD79b, todavía existe una necesidad no satisfecha de tratamientos mejorados para los pacientes con LNH y LLC, en particular, los resistentes a los tratamientos con CAF de anti-CD79b.

50

55 Recientemente, se han desarrollado inmunoterapias basadas en anticuerpos biespecíficos, que se pueden unir simultáneamente a antígenos en la superficie celular en células citotóxicas y células tumorales con la intención de que la célula citotóxica unida destruya la célula tumoral unida. Dichos anticuerpos biespecíficos pueden tener ventajas, por ejemplo, eficacia y/o seguridad en comparación con el conjugado anticuerpo-fármaco. Por tanto, existe una necesidad no satisfecha en el campo de desarrollo de anticuerpos biespecíficos eficaces para su uso en el tratamiento del cáncer.

60

SUMARIO

65 La invención proporciona anticuerpos anti-CD79b y procedimientos de uso de los mismos. En particular, en el presente documento se proporcionan anticuerpos anti-CD79b que comprenden un dominio de unión a CD79b y un dominio de unión a CD3.

- 5 En un aspecto, en el presente documento se proporcionan anticuerpos anti-CD79b aislados, el anticuerpo comprende un dominio de unión a CD79b que comprende las siguientes seis regiones hipervariables (HVR): (a) una HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5; (b) una HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8; (c) una HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; (d) una HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10; (e) una HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11; y (f) una HVR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12.
- 10 En algunos modos de realización, el dominio de unión a CD79b comprende las siguientes seis HVR: (a) una HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; (b) una HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6; (c) una HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; (d) una HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10; (e) una HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11; y (f) una HVR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12. En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo anti-CD79b comprende (a) una secuencia de VH que tiene al menos un 95 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17, 21, 23, 25, 27 o 29; (b) una secuencia de VL que tiene al menos un 95 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18, 22, 24, 26, 28 o 30; o (c) una secuencia de VH como en (a) y una secuencia de VL como en (b). En algunos modos de realización, el anti-CD79b comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 17, 21, 23, 25, 27 o 29. En algunos modos de realización, el anticuerpo anti-CD79b comprende una secuencia de VL de SEQ ID NO: 18, 22, 24, 26, 28 o 30.
- 15
- 20 En algunos modos de realización, el dominio de unión a CD79b comprende las siguientes seis HVR: (a) una HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; (b) una HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7; (c) una HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; (d) una HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10; (e) una HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11; y (f) una HVR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12. En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo anti-CD79b comprende (a) una secuencia de VH que tiene al menos un 95 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19; (b) una secuencia de VL que tiene al menos un 95 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20; o (c) una secuencia de VH como en (a) y una secuencia de VL como en (b). En algunos modos de realización, el anticuerpo anti-CD79b comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 19. En algunos modos de realización, el anticuerpo anti-CD79b comprende una secuencia de VL de SEQ ID NO: 20.
- 25
- 30 En algunos aspectos de la divulgación de cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b, el dominio de unión a CD79b se une a la SEQ ID NO: 63.
- 35 En algunos modos de realización de cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b, el anticuerpo anti-CD79b (por ejemplo, el dominio de unión a CD79b) se une a CD79b humana con una Kd de menos de aproximadamente 25 nM como un anticuerpo IgG bivalente con doble brazo, por ejemplo, de menos de aproximadamente cualquiera de 10 nM o 5 nM. En algunos aspectos de la divulgación, se determina la Kd mediante BIACORE. En algunos aspectos de la divulgación, se determina la Kd mediante CD79b inmovilizada a una densidad baja. En algunos aspectos de la divulgación de cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b, el anticuerpo anti-CD79b (por ejemplo, el dominio de unión a CD79b) se une a un linfocito B (por ejemplo, una célula BJAB) a una CE₅₀ de menos de aproximadamente 150 ng/ml como un anticuerpo IgG bivalente con doble brazo, por ejemplo, de menos de aproximadamente cualquiera de 100 ng/ml, 75 ng/ml o 50 ng/ml. En algunos aspectos de la divulgación, se determina la unión a un linfocito B mediante FACS. En algunos aspectos de la divulgación de cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b, el anticuerpo anti-CD79b (por ejemplo, el dominio de unión a CD79b) se une a CD79b humana que se une a un linfocito B (por ejemplo, una célula BJAB) a una CE₅₀ de menos de aproximadamente 1,5 ug/ml en un formato monovalente (por ejemplo, un anticuerpo biespecífico anti-CD79b que comprende un dominio de unión a CD79b y a CD3), por ejemplo, de menos de aproximadamente 1 ug/ml, 0,75 ug/ml, 0,5 ug/ml o 0,25 ug/ml. En algunos aspectos de la divulgación, se determina la unión a un linfocito B mediante FACS.
- 40
- 45
- 50 En algunos modos de realización de cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b, el anticuerpo anti-CD79b es un anticuerpo monoclonal, humanizado o quimérico. En algunos modos de realización de cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b, el anticuerpo es un anticuerpo IgG. En algunos modos de realización de cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b, el anticuerpo es un fragmento de anticuerpo que se une a CD79b. En algunos aspectos de la divulgación, el fragmento de anticuerpo es un fragmento Fab, Fab'-SH, Fv, scFv y/o (Fab')₂. En algunos modos de realización de cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b, el anticuerpo es un anticuerpo de longitud completa.
- 55
- 60 En algunos modos de realización de cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b, el anticuerpo anti-CD79b comprende una mutación del sitio de aglucosilación. En algunos modos de realización, la mutación del sitio de aglucosilación es una mutación por sustitución.
- 65 En algunos modos de realización de cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b, el anticuerpo anti-CD79b comprende una función efectora reducida. En algunos modos de realización, el anticuerpo comprende una mutación por

sustitución que está en el residuo de aminoácido N297, L234, L235 y/o D265 de acuerdo con la numeración EU. En algunos modos de realización, la mutación por sustitución se selecciona del grupo que consiste en N297G, N297A, L234A, L235A y D265A de acuerdo con la numeración EU. En algunos modos de realización, el anticuerpo comprende una mutación por sustitución N297G en el residuo de aminoácido 297 de acuerdo con la numeración EU.

5 En algunos modos de realización de cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b, el anticuerpo anti-CD79b es un anticuerpo monoespecífico (por ejemplo, un anticuerpo con doble brazo, bivalente).

10 En algunos modos de realización de cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b, el anticuerpo anti-CD79b es un anticuerpo multiespecífico.

15 En algunos modos de realización de cualquiera de los anticuerpos multiespecíficos, el anticuerpo multiespecífico comprende un dominio de unión a CD3. En algunos modos de realización, el dominio de unión a CD3 se une a un polipéptido CD3 humano o a un polipéptido CD3 de macaco cangrejero (cyno). En algunos modos de realización, el polipéptido CD3 humano o el polipéptido CD3 de cyno es un polipéptido CD3ε humano o un polipéptido CD3ε de cyno, respectivamente. En algunos modos de realización, el polipéptido CD3 humano o el polipéptido CD3 de cyno es un polipéptido CD3γ humano o un polipéptido CD3γ de cyno, respectivamente.

20 En algunos modos de realización de cualquiera de los anticuerpos multiespecíficos, el dominio de unión a CD3 se une al polipéptido CD3ε humano con una Kd de 250 nM o más baja. En algunos aspectos de la divulgación, el dominio de unión a CD3 se une al polipéptido CD3ε humano con una Kd de 100 nM o más baja. En algunos aspectos de la divulgación, el dominio de unión a CD3 se une al polipéptido CD3ε humano con una Kd de 15 nM o más baja. En algunos aspectos de la divulgación, el dominio de unión a CD3 se une al polipéptido CD3ε humano con una Kd de 10 nM o más baja. En algunos aspectos de la divulgación, el dominio de unión a CD3 se une al polipéptido CD3s humano con una Kd de 5 nM o más baja.

25 En algunos modos de realización de cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b multiespecíficos, el dominio de unión a CD3 comprende las siguientes seis HVR: (a) una HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:45; (b) una HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46; (c) una HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47; (d) una HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48; (e) una HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49; y (f) una HVR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50. En algunos modos de realización de cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b multiespecíficos, el dominio de unión a CD3 comprende (a) una secuencia de VH que tiene al menos un 95 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:59; (b) una secuencia de VL que tiene al menos un 95 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:60; o (c) una secuencia de VH como en (a) y una secuencia de VL como en (b). En algunos modos de realización, el dominio de unión a CD3 comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO:59. En algunos modos de realización, el dominio de unión a CD3 comprende una secuencia de VL de SEQ ID NO:60.

30 En algunos modos de realización de cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b multiespecíficos, el dominio de unión a CD3 comprende las siguientes seis HVR: (a) una HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:39; (b) una HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:40; (c) una HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:41; (d) una HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:42; (e) una HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:43; y (f) una HVR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44. En algunos aspectos de la divulgación de cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b multiespecíficos, el dominio de unión a CD3 comprende (a) una secuencia de VH que tiene al menos un 95 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:57; (b) una secuencia de VL que tiene al menos un 95 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:58; o (c) una secuencia de VH como en (a) y una secuencia de VL como en (b). En algunos modos de realización, el dominio de unión a CD3 comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO:57. En algunos modos de realización, el dominio de unión a CD3 comprende una secuencia de VL de SEQ ID NO:58.

35 En algunos modos de realización de cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b multiespecíficos, el dominio de unión a CD3 comprende las siguientes seis HVR: (a) una HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51; (b) una HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52; (c) una HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53; (d) una HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; (e) una HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:55; y (f) una HVR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:56. En algunos aspectos de la divulgación de cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b multiespecíficos, el dominio de unión a CD3 comprende (a) una secuencia de VH que tiene al menos un 95 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61; (b) una secuencia de VL que tiene al menos un 95 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:62; o (c) una secuencia de VH como en (a) y una secuencia de VL como en (b). En algunos modos de realización, el dominio de unión a CD3 comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO:61. En algunos modos de realización, el dominio de unión a CD3 comprende una secuencia de VL de SEQ ID NO:62.

En algunos aspectos de la divulgación de cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b multiespecíficos, el anticuerpo anti-CD79b tiene una CE₅₀ para la destrucción de linfocitos B de menos de aproximadamente 100 ng/ml, por ejemplo, de menos de aproximadamente cualquiera de 50, 25, 20 o 15 ng/ml. En algunos aspectos de la divulgación, la destrucción de linfocitos B es la destrucción de linfocitos B endógenos. En algunos aspectos de la divulgación, la destrucción de linfocitos B es la destrucción de linfocitos B en líneas de células, por ejemplo, la línea de células BJAB, la línea de células WSU-CLCL2, la línea de células OCI-Ly-19. En algunos aspectos de la divulgación de cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b multiespecíficos, el anticuerpo anti-CD79b tiene una CE₅₀ para la activación de linfocitos T citotóxicos que es de menos de aproximadamente cualquiera de 50 ng/ml, por ejemplo, de menos de aproximadamente cualquiera de 25 ng/ml o 20 ng/ml. En algunos aspectos de la divulgación, la activación de linfocitos T citotóxicos se mide mediante el % de linfocitos T CD69+CD25+ en los linfocitos T CD8+.

En algunos modos de realización de cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b multiespecíficos, el anticuerpo multiespecífico es un anticuerpo biespecífico.

En algunos modos de realización de cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b multiespecíficos, (a) el dominio de unión a CD3 comprende un dominio Fc, en el que el dominio Fc comprende las mutaciones por sustitución T366S, L368A, Y407V y N297G de acuerdo con la numeración EU y (b) el dominio de unión a CD79b comprende un dominio Fc, en el que el dominio Fc comprende las mutaciones por sustitución T366W y N297G de acuerdo con la numeración EU. En algunos modos de realización de cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b multiespecíficos, (a) el dominio de unión a CD79b comprende un dominio Fc, en el que el dominio Fc comprende las mutaciones por sustitución T366S, L368A, Y407V y N297G de acuerdo con la numeración EU y (b) el dominio de unión a CD3 comprende un dominio Fc, en el que el dominio Fc comprende las mutaciones por sustitución T366W y N297G de acuerdo con la numeración EU.

En algunos aspectos de la divulgación de cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b multiespecíficos, el anticuerpo anti-CD79b comprende uno o más dominios constantes de la cadena pesada, en el que el uno o más dominios constantes de la cadena pesada se seleccionan de un primer dominio CH1 (CH1₁), un primer dominio CH2 (CH2₁), un primer dominio CH3 (CH3₁), un segundo dominio CH1 (CH1₂), un segundo dominio CH2 (CH2₂) y un segundo dominio CH3 (CH3₂). En algunos aspectos de la divulgación, al menos uno de los uno o más dominios constantes de la cadena pesada está apareado con otro dominio constante de la cadena pesada. En algunos aspectos de la divulgación, los dominios CH3₁ y CH3₂ comprenden cada uno una protuberancia o cavidad, y en los que la protuberancia o cavidad en el dominio CH3₁ se puede posicionar en la cavidad o protuberancia, respectivamente, en el dominio CH3₂. En algunos aspectos de la divulgación, los dominios CH3₁ y CH3₂ se encuentran en una interfase entre dichas protuberancia y cavidad. En algunos aspectos de la divulgación, los dominios CH2₁ y CH2₂ comprenden cada uno una protuberancia o cavidad, y en los que la protuberancia o cavidad en el dominio CH2₁ se puede posicionar en la cavidad o protuberancia, respectivamente, en el dominio CH2₂. En algunos aspectos de la divulgación, los dominios CH2₁ y CH2₂ se encuentran en una interfase entre dichas protuberancia y cavidad.

En el presente documento también se proporcionan ácidos nucleicos aislados que codifican un anticuerpo anti-CD79b descrito en el presente documento. En el presente documento se proporcionan además vectores que comprenden un ácido nucleico aislado que codifica un anticuerpo anti-CD79b descrito en el presente documento. En el presente documento se proporcionan células huésped que comprenden un vector que comprende un ácido nucleico aislado que codifica un anticuerpo anti-CD79b descrito en el presente documento. En algunos aspectos de la divulgación, la célula huésped es una célula huésped eucariota. En algunos aspectos de la divulgación, la célula huésped es una célula huésped de mamífero (por ejemplo, CHO). En algunos aspectos de la divulgación, la célula huésped es una célula huésped procaríota. En algunos aspectos de la divulgación, la célula huésped procaríota es una célula huésped de *E. coli*. En el presente documento se proporcionan procedimientos adicionales de producción del anticuerpo anti-CD79b descrito en el presente documento, en los que el procedimiento comprende cultivar la célula huésped descrita en el presente documento en un medio de cultivo.

En el presente documento se proporcionan además inmunoconjugados que comprenden un anticuerpo anti-CD79b descrito en el presente documento y un agente citotóxico.

En el presente documento se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden el anticuerpo anti-CD79b descrito en el presente documento.

En el presente documento se proporcionan anticuerpos anti-CD79b como se describe en el presente documento para su uso como un medicamento. En el presente documento se proporcionan anticuerpos anti-CD79b descritos en el presente documento para su uso en el tratamiento o retraso de la progresión de un trastorno proliferativo de linfocitos B o un trastorno autoinmunitario en un sujeto que lo necesite. En el presente documento se proporcionan anticuerpos anti-CD79b como se describe en el presente documento para su uso en la potenciación de la función inmunitaria en un sujeto que tiene un trastorno proliferativo de linfocitos B o un trastorno autoinmunitario. En algunos aspectos de la divulgación, el trastorno proliferativo de linfocitos B es un cáncer. En algunos modos de realización, el trastorno proliferativo de linfocitos B es linfoma, linfoma no hodgkiniano (LNH), LNH de gran malignidad, LNH recidivante de gran malignidad, LNH recidivante de escasa malignidad, LNH insensible al tratamiento, LNH de escasa malignidad

insensible al tratamiento, leucemia linfocítica crónica (LLC), linfoma linfocítico pequeño, leucemia, tricoleucemia (TL), leucemia linfocítica aguda (LLA) y/o linfoma de células del manto. En algunos aspectos de la divulgación de cualquiera de los trastornos proliferativos de linfocitos B, el trastorno proliferativo de linfocitos B es resistente al tratamiento con un conjugado anticuerpo-fármaco de anti-CD79b (por ejemplo, un conjugado anticuerpo-fármaco anti-CD79b-MMAE).

5 En algunos aspectos de la divulgación, el trastorno autoinmunitario se selecciona del grupo que consiste en artritis reumatoide, artritis reumatoide juvenil, lupus eritematoso diseminado (LED), enfermedad de Wegener, enfermedad intestinal inflamatoria, púrpura trombocitopénica idiopática (PTI), púrpura trombocitopénica trombótica (PTT), trombocitopenia autoinmunitaria, esclerosis múltiple, psoriasis, nefropatía por IgA, polineuropatías por IgM, miastenia grave, vasculitis, diabetes *mellitus*, síndrome de Reynaud, síndrome de Sjögren, glomerulonefritis, neuromielitis óptica (NMO) y neuropatía por IgG.

15 En el presente documento se proporcionan usos de cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b descritos en el presente documento en la fabricación de un medicamento para tratar o retrasar la progresión de un trastorno proliferativo celular o un trastorno autoinmunitario. En el presente documento se proporcionan usos de cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b descritos en el presente documento en la fabricación de un medicamento para potenciar la función inmunitaria en un sujeto que tiene un trastorno proliferativo celular o un trastorno autoinmunitario. En algunos aspectos de la divulgación, el trastorno proliferativo de linfocitos B es un cáncer. En algunos modos de realización, el trastorno proliferativo de linfocitos B es linfoma, linfoma no hodgkiniano (LNH), LNH de gran malignidad, LNH recidivante de gran malignidad, LNH recidivante de escasa malignidad, LNH insensible al tratamiento, LNH de escasa malignidad insensible al tratamiento, leucemia linfocítica crónica (LLC), linfoma linfocítico pequeño, leucemia, tricoleucemia (TL), leucemia linfocítica aguda (LLA) y/o linfoma de células del manto. En algunos aspectos de la divulgación de cualquiera de los trastornos proliferativos de linfocitos B, el trastorno proliferativo de linfocitos B es resistente al tratamiento con un conjugado anticuerpo-fármaco de anti-CD79b (por ejemplo, un conjugado anticuerpo-fármaco anti-CD79b-MMAE). En algunos aspectos de la divulgación, el trastorno autoinmunitario se selecciona del grupo que consiste en artritis reumatoide, artritis reumatoide juvenil, lupus eritematoso diseminado (LED), enfermedad de Wegener, enfermedad intestinal inflamatoria, púrpura trombocitopénica idiopática (PTI), púrpura trombocitopénica trombótica (PTT), trombocitopenia autoinmunitaria, esclerosis múltiple, psoriasis, nefropatía por IgA, polineuropatías por IgM, miastenia grave, vasculitis, diabetes *mellitus*, síndrome de Reynaud, síndrome de Sjögren, glomerulonefritis, neuromielitis óptica (NMO) y neuropatía por IgG.

30 En el presente documento se proporcionan procedimientos de tratamiento o retraso de la progresión de un trastorno proliferativo celular o un trastorno autoinmunitario en un sujeto que lo necesite, comprendiendo el procedimiento administrar al sujeto un anticuerpo anti-CD79b descrito en el presente documento. En el presente documento se proporcionan procedimientos de potenciación de la función inmunitaria en un sujeto que tiene un trastorno proliferativo celular o un trastorno autoinmunitario, comprendiendo el procedimiento administrar al sujeto una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-CD79b descrito en el presente documento. En algunos aspectos de la divulgación, el trastorno proliferativo de linfocitos B es un cáncer. En algunos modos de realización, el trastorno proliferativo de linfocitos B es linfoma, linfoma no hodgkiniano (LNH), LNH de gran malignidad, LNH recidivante de gran malignidad, LNH recidivante de escasa malignidad, LNH insensible al tratamiento, LNH de escasa malignidad insensible al tratamiento, leucemia linfocítica crónica (LLC), linfoma linfocítico pequeño, leucemia, tricoleucemia (TL), leucemia linfocítica aguda (LLA) y/o linfoma de células del manto. En algunos aspectos de la divulgación de cualquiera de los trastornos proliferativos de linfocitos B, el trastorno proliferativo de linfocitos B es resistente al tratamiento con un conjugado anticuerpo-fármaco de anti-CD79b (por ejemplo, un conjugado anticuerpo-fármaco anti-CD79b-MMAE). En algunos aspectos de la divulgación, el trastorno autoinmunitario se selecciona del grupo que consiste en artritis reumatoide, artritis reumatoide juvenil, lupus eritematoso diseminado (LED), enfermedad de Wegener, enfermedad intestinal inflamatoria, púrpura trombocitopénica idiopática (PTI), púrpura trombocitopénica trombótica (PTT), trombocitopenia autoinmunitaria, esclerosis múltiple, psoriasis, nefropatía por IgA, polineuropatías por IgM, miastenia grave, vasculitis, diabetes *mellitus*, síndrome de Reynaud, síndrome de Sjögren, glomerulonefritis, neuromielitis óptica (NMO) y neuropatía por IgG.

50 En algunos aspectos de la divulgación de cualquiera de los procedimientos, el anticuerpo anti-CD79b se une a (a) una molécula de CD3 localizada en una célula efectora inmunitaria y (b) una molécula de CD79b localizada en un linfocito B. En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo anti-CD79b activa la célula efectora inmunitaria tras la unión a (a) y (b). En algunos aspectos de la divulgación de cualquiera de los procedimientos, la célula efectora inmunitaria activada puede ejercer un efecto citotóxico y/o un efecto apoptótico sobre la célula diana.

60 En algunos modos de realización de cualquiera de los procedimientos, el procedimiento comprende además administrar al sujeto un antagonista de unión al eje de PD-1 o un agente terapéutico adicional. En algunos modos de realización, el antagonista de unión al eje de PD-1 es un antagonista de unión a PD-1. En algunos aspectos de la divulgación, el antagonista de unión al eje de PD-1 es un antagonista de unión a PD-L1. En algunos aspectos de la divulgación, el antagonista de unión al eje de PD-1 es un antagonista de unión a PD-L2.

65 En algunos modos de realización de cualquiera de los procedimientos, el procedimiento comprende además administrar al sujeto un glucocorticoide. En algunos aspectos de la divulgación, el glucocorticoide es dexametasona.

En algunos modos de realización de cualquiera de los procedimientos, el procedimiento comprende además

administrar al sujeto rituximab.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

5 La **figura 1A-C** muestra la destrucción de linfocitos B endógenos con anticuerpos TDB (bienespecíficos dependientes de linfocitos T) anti-CD79b/CD3 producidos en formato B y O o bien como bisfabs (diversos clones de anti-CD79b apareados con el clon de anti-CD3 UCHT1v9). Se incubaron 200.000 PBMC con o sin TDB anti-CD79b durante 24 horas. Al final de la incubación, se contó el número de linfocitos B vivos mediante selección en una población CD19+/PI-. El porcentaje de destrucción de linfocitos B se calculó como sigue: (número de linfocitos B vivos sin TDB - número de linfocitos B vivos con TDB) / (número de linfocitos B vivos sin TDB) * 100.

15 La **figura 2A-D** muestra la actividad de destrucción de linfocitos B y de activación de linfocitos T del bisfab anti-CD79b/CD3 (CD79b.A7/UCHT1v9). **A** y **B**: Se incubaron 200.000 PBMC con o sin TDB anti-CD79b durante 24 h. Al final de la incubación, se contó el número de linfocitos B vivos mediante selección en una población CD19+/PI-. El porcentaje de destrucción de linfocitos B (**A**) se calculó como sigue: (número de linfocitos B vivos sin TDB - número de linfocitos B vivos con TDB) / (número de linfocitos B vivos sin TDB) * 100; la activación de linfocitos T (**B**) se midió mediante selección en células CD69+/CD25+ en la población de linfocitos T CD8+. **C** y **D**: Se incubaron 20.000 células BJAB y 100.000 linfocitos T CD8+ con o sin TDB anti-CD79b durante 24 h. Al final de la incubación, se contó el número de linfocitos B vivos mediante selección en una población CD19+/PI-. El porcentaje de destrucción de linfocitos B (**C**) se calculó como sigue: (número de linfocitos B vivos sin TDB - número de linfocitos B vivos con TDB) / (número de linfocitos B vivos sin TDB) * 100; la activación de linfocitos T (**D**) se midió mediante selección en células CD69+/CD25+ en la población de linfocitos T CD8+.

25 La **figura 3A-C** muestra la afinidad de unión monovalente o bivalente de diversos clones de anti-CD79b medida mediante FACS. Se incubaron células BJAB con anticuerpo anti-CD79b (un anticuerpo con doble brazo, bivalente) o anticuerpo TDB anti-CD79b/CD3 como se indica durante 30 minutos en hielo. Al final de la incubación, se lavaron las células con tampón para FACS helado (1x PBS, BSA al 2 %, EDTA 2 mM), seguido de incubación con anticuerpo anti-IgG humana de ratón marcado con PE (BD bioscience n.º 555787). El análisis con citometría de flujo se realizó en un analizador BD LSR. La unión del anticuerpo se expresó como la intensidad de fluorescencia media (IFM) del fluoróforo PE. **A**: La afinidad de unión bivalente del clon de anti-CD79b 2F2 en comparación con la afinidad de unión monovalente de los clones de anti-CD79b 2F2, SN8v28 y SN8nuevo (como TDB en B y O); **B**: afinidad de unión bivalente de los clones de anti-CD79b CD79b.F6 y CD79b.A7 en comparación con la unión monovalente de los clones de anti-CD79b CD79b.F6, CD79b.A7 y SN8v28 (como TDB en B y O o en bisfab); **C**: afinidad de unión bivalente del clon de anti-CD79b CD79b.A7.v14 en comparación con la unión monovalente del clon de anti-CD79b CD79b.A7.v14 (como TDB en B y O).

40 La **figura 4A-B** muestra la alineación de (**A**) la región variable de la cadena pesada (SEQ ID NO 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27 y 29, respectivamente, en orden de aparición) y (**B**) la región variable de la cadena ligera (SEQ ID NO 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 y 30, respectivamente, en orden de aparición) de variantes del anticuerpo CD79b.

45 La **figura 5A-B** muestra la actividad de destrucción de linfocitos B y de activación de linfocitos T de TDB anti-CD79b/CD3 (CD79b.A7.v14 apareado con el clon de anti-CD3 40G5c o bien 38E4v1). Se incubaron 200.000 PBMC con o sin TDB anti-CD79b durante 48 horas. Al final de la incubación, se contó el número de linfocitos B vivos mediante selección en una población CD19+/PI-. El porcentaje de destrucción de linfocitos B (**A**) se calculó como sigue: (número de linfocitos B vivos sin TDB - número de linfocitos B vivos con TDB) / (número de linfocitos B vivos sin TDB) * 100; la activación de linfocitos T (**B**) se midió mediante selección en células CD69+/CD25+ en la población de linfocitos T CD8+.

50 La **figura 6A-B** muestra la actividad de destrucción de linfocitos B y de activación de linfocitos T de TDB anti-CD79b/CD3 (CD79b.A7v14/38E4v1). Se incubaron 20.000 células BJAB o WSU-DLCL2 y 100.000 linfocitos T CD8+ con o sin TDB anti-CD79b durante 48 horas. Al final de la incubación, se contó el número de linfocitos B vivos mediante selección en una población CD19+/PI-. El porcentaje de destrucción de linfocitos B (**A**) se calculó como sigue: (número de linfocitos B vivos sin TDB - número de linfocitos B vivos con TDB) / (número de linfocitos B vivos sin TDB) * 100; la activación de linfocitos T (**B**) se midió mediante selección en células CD69+/CD25+ en la población de linfocitos T CD8+.

60 La **figura 7A-C** muestra la actividad de destrucción de linfocitos B del anticuerpo TDB anti-CD79b/CD3 (A7.v14b/38E4v1). Se incubaron 20.000 linfocitos B de linfoma (como se indica) y 100.000 linfocitos T CD8+ con o sin TDB anti-CD79b durante 48 horas. Al final de la incubación, se contó el número de linfocitos B vivos mediante selección en una población CD19+/PI-. El porcentaje de destrucción de linfocitos B se calculó como sigue: (número de linfocitos B vivos sin TDB - número de linfocitos B vivos con TDB) / (número de linfocitos B vivos sin TDB) * 100. **A** muestra una curva de respuesta a la dosis de la destrucción de linfocitos B para las células BJAB, WSU-DLCL2 y OCI-LY-19, con células HT como control negativo con respecto a CD79b; **B-C** muestran la destrucción de linfocitos B con 5000 ng/ml de TDB anti-CD79 (por duplicado, promedio \pm DE).

65 La **figura 8A-B** muestra la actividad de destrucción de linfocitos B del anticuerpo TDB anti-CD79b/CD3

(CD79b.A7.v14b/38E4v1) *in vitro* e *in vivo*. Las variantes de células BJAB (BJAB-CD79b ADC-R T1.1 y BJAB-SN8v28vcE CD79b ADC-R T1.2) se derivaron de tumores de xenoinjertos de BJAB no sensibles en ratones tratados con anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE. **A.** muestra la curva de respuesta a la dosis de la destrucción de células BJAB *in vitro*: Se incubaron 20.000 células BJAB o variantes de BJAB (como se indica) y 100.000 linfocitos T CD8+ con o sin anticuerpo TDB anti-CD79b/CD3 (CD79b.A7.v14b/38E4v1) durante 48 horas. Al final de la incubación, se contó el número de linfocitos B vivos mediante selección en una población CD19+/PI-. El porcentaje de destrucción de linfocitos B se calculó como sigue: (número de linfocitos B vivos sin TDB - número de linfocitos B vivos con TDB) / (número de linfocitos B vivos sin TDB) * 100; **B.** el anticuerpo TDB anti-CD79b/CD3 (CD79b.A7.v14b/38E4v1) previene el crecimiento de tumores de BJAB *in vivo*: se mezclaron las células BJAB y PBMC de un donante sano y se inocularon por vía subcutánea, y, a continuación, los ratones se trataron como se indica. Se midieron los volúmenes tumorales a lo largo del estudio hasta los 42 días.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LOS MODOS DE REALIZACIÓN DE LA INVENCION

15 I. DEFINICIONES

El término "CD79b", como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier CD79b natural de cualquier fuente de vertebrado, incluyendo mamíferos tales como primates (por ejemplo, seres humanos, macaco cangrejero (*cyno*)) y roedores (por ejemplo, ratones y ratas), a menos que se indique de otro modo. La CD79b humana también se denomina en el presente documento "Igβ", "B29", "DNA225786" o "PRO36249". Una secuencia de CD79b ejemplar que incluye la secuencia señal se muestra en la SEQ ID NO:1. Una secuencia CD79b ejemplar sin la secuencia señal se muestra en la SEQ ID NO:2. El término "CD79b" engloba la CD79b no procesada "de longitud completa", así como cualquier forma de CD79b que resulte del procesamiento en la célula. El término también engloba variantes naturales de CD79b, por ejemplo, variantes de empalme, variantes alélicas e isoformas. Los polipéptidos CD79b descritos en el presente documento se pueden aislar de una variedad de fuentes, tales como tipos de tejidos humanos o de otra fuente, o se pueden preparar mediante procedimientos recombinantes o sintéticos. Un "polipéptido CD79b de secuencia natural" comprende un polipéptido que tiene la misma secuencia de aminoácidos que el polipéptido CD79b correspondiente derivado de la naturaleza. Dichos polipéptidos CD79b de secuencia natural se pueden aislar de la naturaleza o se pueden producir mediante medios recombinantes o sintéticos. El término "polipéptido CD79b de secuencia natural" engloba específicamente formas truncadas o segregadas naturales del polipéptido CD79b específico (por ejemplo, una secuencia de dominio extracelular), formas variantes naturales (por ejemplo, de forma alternativa formas empalmadas) y variantes alélicas naturales del polipéptido.

El término "grupo de diferenciación 3" o "CD3", como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier CD3 natural de cualquier fuente de vertebrado, incluyendo mamíferos, tales como primates (por ejemplo, seres humanos) y roedores (por ejemplo, ratones y ratas), a menos que se indique de otro modo, incluyendo, por ejemplo, las cadenas CD3ε, CD3γ, CD3α y CD3β. El término engloba el CD3 no procesado "de longitud completa" (por ejemplo, CD3ε o CD3γ no procesado o no modificado), así como cualquier forma de CD3 que resulte del procesamiento en la célula. El término también engloba variantes naturales de CD3, incluyendo, por ejemplo, variantes de empalme o variantes alélicas. CD3 incluye, por ejemplo, la proteína CD3ε humana (RefSeq n.º NP_000724 de NCBI), que tiene 207 aminoácidos de longitud, y la proteína CD3γ humana (RefSeq n.º NP_000064 de NCBI), que tiene 182 aminoácidos de longitud.

Los términos "anticuerpo anti-CD79b" y "un anticuerpo que se une a CD79b" se refieren a un anticuerpo que se puede unir a CD79b con una afinidad suficiente, de tal manera que el anticuerpo sea útil como agente de diagnóstico y/o terapéutico en la selección como diana de CD79b. En un aspecto de la divulgación, el grado de unión de un anticuerpo anti-CD79b a una proteína distinta de CD79b no relacionada es de menos de aproximadamente un 10 % de la unión del anticuerpo a CD79b como se mide, por ejemplo, mediante un radioinmunoensayo (RIA). En determinados aspectos de la divulgación, un anticuerpo que se une a CD79b tiene una constante de disociación (Kd) de $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, $\leq 0,1 \text{ nM}$, $\leq 0,01 \text{ nM}$ o $\leq 0,001 \text{ nM}$ (por ejemplo, 10^{-8} M o menos, por ejemplo, de 10^{-8} M a 10^{-13} M , por ejemplo, de 10^{-9} M a 10^{-13} M). En determinados aspectos de la divulgación, un anticuerpo anti-CD79b se une a un epítipo de CD79b que se conserva entre CD79b de diferentes especies.

Los términos "anticuerpo anti-CD3" y "un anticuerpo que se une a CD3" se refieren a un anticuerpo que se puede unir a CD3 con una afinidad suficiente, de tal manera que el anticuerpo sea útil como agente de diagnóstico y/o terapéutico en la selección como diana de CD3. En un aspecto de la divulgación, el grado de unión de un anticuerpo anti-CD3 a una proteína distinta de CD3 no relacionada es de menos de aproximadamente un 10 % de la unión del anticuerpo a CD3 como se mide, por ejemplo, mediante un radioinmunoensayo (RIA). En determinados aspectos de la divulgación, un anticuerpo que se une a CD3 tiene una constante de disociación (Kd) de $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, $\leq 0,1 \text{ nM}$, $\leq 0,01 \text{ nM}$ o $\leq 0,001 \text{ nM}$ (por ejemplo, 10^{-8} M o menos, por ejemplo, de 10^{-8} M a 10^{-13} M , por ejemplo, de 10^{-9} M a 10^{-13} M). En determinados aspectos de la divulgación, un anticuerpo anti-CD3 se une a un epítipo de CD3 que se conserva entre CD3 de diferentes especies.

El término "anticuerpo" se usa en el presente documento en el sentido más amplio y engloba diversas estructuras de anticuerpo, incluyendo, pero sin limitarse a, anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos) y fragmentos de anticuerpo, siempre que presenten la

actividad de unión a antígeno deseada.

Un "fragmento de anticuerpo" se refiere a una molécula distinta de un anticuerpo intacto que comprende una porción de un anticuerpo intacto que se une al antígeno al que se une el anticuerpo intacto. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpo incluyen, pero no se limitan a, Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂; diacuerpos; anticuerpos lineales; moléculas de anticuerpo monocatenario (por ejemplo, scFv); y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpo.

La "clase" de un anticuerpo se refiere al tipo de dominio constante o región constante que posee su cadena pesada. Existen cinco clases principales de anticuerpos: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, y varias de estas se pueden dividir además en subclases (isotipos), por ejemplo, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ e IgA₂. Los dominios constantes de la cadena pesada que se corresponden con las diferentes clases de inmunoglobulinas se llaman α , δ , ϵ , γ y μ , respectivamente.

Un anticuerpo "aislado" es uno que se ha separado de un componente de su entorno natural. En algunos aspectos de la divulgación, se purifica un anticuerpo a más de un 95 % o 99 % de pureza, como se determina, por ejemplo, mediante electroforesis (por ejemplo, SDS-PAGE, isoelectroenfoque (IEF), electroforesis capilar) o cromatografía (por ejemplo, HPLC de intercambio iónico o de fase inversa). Para una revisión de los procedimientos para la evaluación de la pureza de los anticuerpos, véase, por ejemplo, Flatman *et al.*, *J. Chromatogr. B* 848:79-87 (2007).

Los términos "anticuerpo de longitud completa", "anticuerpo intacto" y "anticuerpo completo" se usan en el presente documento de manera intercambiable para hacer referencia a un anticuerpo que tiene una estructura sustancialmente similar a una estructura de anticuerpo natural o que tiene cadenas pesadas que contienen una región Fc como se define en el presente documento.

El término "anticuerpo monoclonal" como se usa en el presente documento se refiere a un anticuerpo obtenido de una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos, es decir, los anticuerpos individuales que comprenden la población son idénticos y/o se unen al mismo epítipo, excepto por posibles anticuerpos variantes, por ejemplo, que contienen mutaciones naturales o surgen durante la producción de una preparación de anticuerpos monoclonales, estando presentes, en general, dichas variantes en cantidades insignificantes. A diferencia de las preparaciones de anticuerpos policlonales, que típicamente incluyen diferentes anticuerpos dirigidos frente a diferentes determinantes (epítipos), cada anticuerpo monoclonal de una preparación de anticuerpos monoclonales se dirige frente a un único determinante en un antígeno. Por tanto, el modificador "monoclonal" indica el carácter del anticuerpo como que se ha obtenido de una población sustancialmente homogénea de anticuerpos, y no se ha de interpretar como que requiere la producción del anticuerpo mediante ningún procedimiento particular. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales que se van a usar de acuerdo con la presente invención se pueden preparar mediante una variedad de técnicas, incluyendo, pero sin limitarse al procedimiento de hibridoma, procedimientos de ADN recombinante, procedimientos de presentación en fagos y procedimientos que utilizan animales transgénicos que contienen todos o parte de los locus de inmunoglobulina humana; estando descritos en el presente documento dichos procedimientos y otros procedimientos ejemplares para preparar anticuerpos monoclonales.

Un anticuerpo "humanizado" se refiere a un anticuerpo quimérico que comprende residuos de aminoácido de HVR no humanas y residuos de aminoácido de FR humanas. En determinados aspectos de la divulgación, un anticuerpo humanizado comprenderá sustancialmente todos de al menos uno, y típicamente dos, dominios variables, en los que todas o sustancialmente todas de las HVR (por ejemplo, CDR) se corresponden con las de un anticuerpo no humano, y todas o sustancialmente todas de las FR se corresponden con las de un anticuerpo humano. Un anticuerpo humanizado puede comprender opcionalmente al menos una porción de una región constante de anticuerpo derivada de un anticuerpo humano. Una "forma humanizada" de un anticuerpo, por ejemplo, un anticuerpo no humano, se refiere a un anticuerpo que se ha sometido a humanización.

El término anticuerpo "quimérico" se refiere a un anticuerpo en el que una porción de la cadena pesada y/o ligera se deriva de una fuente o especie particular, mientras que el resto de la cadena pesada y/o ligera se deriva de una fuente o especie diferente.

Un "anticuerpo humano" es uno que posee una secuencia de aminoácidos que se corresponde con la de un anticuerpo producido por un ser humano o una célula humana o derivado de una fuente no humana que utiliza repertorios de anticuerpos humanos u otras secuencias que codifican anticuerpos humanos. Esta definición de un anticuerpo humano excluye específicamente a un anticuerpo humanizado que comprende residuos de unión a antígeno no humanos.

Un "anticuerpo no marcado" se refiere a un anticuerpo que no se conjuga con un resto heterólogo (por ejemplo, un resto citotóxico) o radiomarcador. El anticuerpo no marcado puede estar presente en una formulación farmacéutica.

Los "anticuerpos naturales" se refieren a moléculas de inmunoglobulina natural con estructuras variables. Por ejemplo, los anticuerpos IgG naturales son glucoproteínas heterotetrámeras de aproximadamente 150.000 dalton, compuestas de dos cadenas ligeras idénticas y dos cadenas pesadas idénticas que se unen con enlaces disulfuro. Desde el extremo N al C, cada cadena pesada tiene una región variable (VH), también llamada dominio pesado variable o

dominio variable de la cadena pesada, seguida de tres dominios constantes (CH1, CH2 y CH3). De forma similar, desde el extremo N al C, cada cadena ligera tiene una región variable (VL), también llamada dominio ligero variable o dominio variable de la cadena ligera, seguida de un dominio ligero constante (CL). La cadena ligera de un anticuerpo se puede asignar a uno de dos tipos, llamados kappa (κ) y lambda (λ), en base a la secuencia de aminoácidos de su dominio constante.

El término "región variable" o "dominio variable" se refiere al dominio de una cadena pesada o ligera de anticuerpo que está implicado en la unión del anticuerpo al antígeno. Los dominios variables de la cadena pesada y de la cadena ligera (VH y VL, respectivamente) de un anticuerpo natural tienen, en general, estructuras similares, comprendiendo cada dominio cuatro regiones estructurales (FR) conservadas y tres regiones hipervariables (HVR). (Véase, por ejemplo, Kindt *et al. Kuby Immunology*, 6.^a ed., W.H. Freeman y Co., página 91 (2007)). Un dominio VH o VL único puede ser suficiente para conferir especificidad de unión a antígeno. Además, los anticuerpos que se unen a un antígeno particular se pueden aislar usando un dominio VH o VL de un anticuerpo que se une al antígeno para cribar una colección de dominios VL o VH complementarios, respectivamente. Véanse, por ejemplo, Portolano *et al.*, *J. Immunol.* 150:880-887 (1993); Clarkson *et al.*, *Nature* 352:624-628 (1991).

La "región estructural" o "FR" se refiere a los residuos del dominio variable distintos de los residuos de la región hipervariable (HVR). La FR de un dominio variable consiste, en general, en cuatro dominios de FR: FR1, FR2, FR3 y FR4. En consecuencia, las secuencias de HVR y FR aparecen, en general, en la siguiente secuencia en VH (o VL): FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4.

El término "región hipervariable" o "HVR" como se usa en el presente documento se refiere a cada una de las regiones de un dominio variable de anticuerpo que son hipervariables en secuencia ("regiones determinantes de la complementariedad" o "CDR") y/o forman bucles estructuralmente definidos ("bucles hipervariables") y/o contienen los residuos en contacto con el antígeno ("contactos con el antígeno"). En general, los anticuerpos comprenden seis HVR: tres en el VH (H1, H2, H3) y tres en el VL (L1, L2, L3). Las HVR ejemplares en el presente documento incluyen:

(a) bucles hipervariables que se producen en los residuos de aminoácido 26-32 (L1), 50-52 (L2), 91-96 (L3), 26-32 (H1), 53-55 (H2) y 96-101 (H3) (Chothia y Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987));

(b) CDR que se producen en los residuos de aminoácido 24-34 (L1), 50-56 (L2), 89-97 (L3), 31-35b (H1), 50-65 (H2) y 95-102 (H3) (Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5.^a ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991));

(c) contactos con el antígeno que se producen en los residuos de aminoácido 27c-36 (L1), 46-55 (L2), 89-96 (L3), 30-35b (H1), 47-58 (H2) y 93-101 (H3) (MacCallum *et al. J. Mol. Biol.* 262: 732-745 (1996)); y

(d) combinaciones de (a), (b) y/o (c), incluyendo los residuos de aminoácido de HVR 46-56 (L2), 47-56 (L2), 48-56 (L2), 49-56 (L2), 26-35 (H1), 26-35b (H1), 49-65 (H2), 93-102 (H3) y 94-102 (H3).

A menos que se indique de otro modo, los residuos de HVR y otros residuos en el dominio variable (por ejemplo, los residuos de FR) se numeran en el presente documento de acuerdo con Kabat *et al.*, *supra*.

El término "región Fc" se usa en el presente documento para definir una región C terminal de una cadena pesada de inmunoglobulina que contiene al menos una porción de la región constante. El término incluye regiones Fc de secuencia natural y regiones Fc variantes. En un aspecto de la divulgación, una región Fc de la cadena pesada de IgG humana se extiende desde Cys226, o desde Pro230, al extremo carboxílico de la cadena pesada. Sin embargo, la lisina C terminal (Lys447) de la región Fc puede estar presente o no. A menos que se especifique de otro modo en el presente documento, la numeración de los residuos de aminoácido en la región Fc o región constante es de acuerdo con el sistema de numeración EU, también llamado índice EU, como se describe en Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5.^a ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991.

Una "región Fc variante" comprende una secuencia de aminoácidos que difiere de la de una región Fc de secuencia natural en virtud de al menos una modificación de aminoácidos, preferentemente una o más sustitución/sustituciones de aminoácidos. Preferentemente, la región Fc variante tiene al menos una sustitución de aminoácidos en comparación con una región Fc de secuencia natural o con la región Fc de un polipéptido original, por ejemplo, desde aproximadamente una a aproximadamente diez sustituciones de aminoácidos y, preferentemente, desde aproximadamente una a aproximadamente cinco sustituciones de aminoácidos en una región Fc de secuencia natural o en la región Fc del polipéptido original. La región Fc variante en el presente documento poseerá preferentemente al menos aproximadamente un 80 % de homología con una región Fc de secuencia natural y/o con una región Fc de un polipéptido original y, lo más preferentemente al menos aproximadamente un 90 % de homología con la misma, más preferentemente al menos aproximadamente un 95 % de homología con la misma.

Una "región estructural consenso humana" es una región estructural que representa los residuos de aminoácido que aparecen lo más comúnmente en una selección de secuencias de la región estructural de VL o VH de inmunoglobulina humana. En general, la selección de secuencias de VL o VH de inmunoglobulina humana es de un subgrupo de

secuencias de dominio variable. En general, el subgrupo de secuencias es un subgrupo como en Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, quinta edición, publicación del NIH 91-3242, Bethesda MD (1991), vols. 1-3. En un aspecto de la divulgación, para el VL, el subgrupo es el subgrupo kappa I como en Kabat *et al.*, *supra*. En un aspecto de la divulgación, para el VH, el subgrupo es el subgrupo III como en Kabat *et al.*, *supra*.

Una "región estructural humana aceptora" para los propósitos en el presente documento es una región estructural que comprende la secuencia de aminoácidos de una región estructural del dominio variable de la cadena ligera (VL) o una región estructural del dominio variable de la cadena pesada (VH) derivada de una región estructural de inmunoglobulina humana o una región estructural consenso humana, como se define a continuación. Una región estructural humana aceptora "derivada de" una región estructural de inmunoglobulina humana o una región estructural consenso humana puede comprender la misma secuencia de aminoácidos de la misma, o puede contener cambios en la secuencia de aminoácidos. En algunos aspectos de la divulgación, el número de cambios de aminoácidos es de 10 o menos, 9 o menos, 8 o menos, 7 o menos, 6 o menos, 5 o menos, 4 o menos, 3 o menos o 2 o menos. En algunos aspectos de la divulgación, la región estructural humana aceptora de VL es idéntica en secuencia a la secuencia de la región estructural de inmunoglobulina humana de VL o la secuencia de la región estructural consenso humana.

"Afinidad" se refiere a la fuerza de la suma total de las interacciones no covalentes entre un único sitio de unión de una molécula (por ejemplo, un anticuerpo) y su compañero de unión (por ejemplo, un antígeno). A menos que se indique de otro modo, como se usa en el presente documento, "afinidad de unión" se refiere a la afinidad de unión intrínseca que refleja una interacción 1:1 entre los miembros de un par de unión (por ejemplo, un anticuerpo y antígeno). La afinidad de una molécula X por su compañero Y se puede representar, en general, mediante la constante de disociación (Kd). La afinidad se puede medir mediante procedimientos comunes conocidos en la técnica, incluyendo los descritos en el presente documento. Los aspectos ilustrativos y ejemplares específicos de la divulgación para medir la afinidad de unión se describen en lo que sigue.

Un anticuerpo "madurado en afinidad" se refiere a un anticuerpo con una o más alteraciones en una o más regiones hipervariables (HVR), en comparación con un anticuerpo original que no posee dichas alteraciones, dando como resultado dichas alteraciones una mejora en la afinidad del anticuerpo por el antígeno.

Por "dominio de unión" se quiere decir una parte de un compuesto o una molécula que se une específicamente a un epítipo, antígeno, ligando o receptor diana. Los dominios de unión incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos monoclonales, policlonales, recombinantes, humanizados y quiméricos), fragmentos de anticuerpo o porciones de los mismos (por ejemplo, fragmentos Fab, Fab'2, anticuerpos scFv, SMIP, anticuerpos de dominio, diacuerpos, minicuerpos, scFv-Fc, aficuerpos, nanocuerpos y dominios VH y/o VL de anticuerpos), receptores, ligandos, aptámeros y otras moléculas que tienen un compañero de unión identificado.

Las "funciones efectoras" se refieren a las actividades biológicas atribuibles a la región Fc de un anticuerpo, que varían con el isotipo de anticuerpo. Los ejemplos de funciones efectoras de anticuerpo incluyen: unión a C1q y citotoxicidad dependiente del complemento (CDC); unión al receptor Fc; citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC); fagocitosis; regulación por disminución de receptores en la superficie celular (por ejemplo, el receptor de linfocitos B); y activación de linfocitos B.

Un "inmunoconjugado" es un anticuerpo conjugado con una o más molécula(s) heteróloga(s), incluyendo, pero sin limitarse a un agente citotóxico.

El término "agente citotóxico" como se usa en el presente documento se refiere a una sustancia que inhibe o previene una función celular y/o provoca la muerte o destrucción de las células. Los agentes citotóxicos incluyen, pero no se limitan a, isótopos radioactivos (por ejemplo, At²¹¹, I¹³¹, I¹²⁵, Y⁹⁰, Re¹⁸⁶, Re¹⁸⁸, Sm¹⁵³, Bi²¹², P³², Pb²¹² e isótopos radioactivos de Lu); agentes o fármacos quimioterápicos (por ejemplo, metotrexato, adriamicina, alcaloides de la vinca (vincristina, vinblastina, etopósido), doxorubicina, melfalán, mitomicina C, clorambucilo, daunorrubicina u otros agentes intercalantes); agentes inhibidores del crecimiento; enzimas y fragmentos de las mismas, tales como enzimas nucleolíticas; antibióticos; toxinas, tales como toxinas de micromoléculas o toxinas enzimáticamente activas de origen bacteriano, fúngico, vegetal o animal, incluyendo fragmentos y/o variantes de las mismas; y los diversos agentes antitumorales o antineoplásicos divulgados a continuación.

Un ácido nucleico "aislado" se refiere a una molécula de ácido nucleico que se ha separado de un componente de su entorno natural. Un ácido nucleico aislado incluye una molécula de ácido nucleico contenida en células que contienen habitualmente la molécula de ácido nucleico, pero la molécula de ácido nucleico está presente de forma extracromosómica o en una localización cromosómica que sea diferente de su localización cromosómica natural.

"Ácido nucleico aislado que codifica un anticuerpo anti-CD79b" se refiere a una o más moléculas de ácido nucleico que codifican las cadenas pesada y ligera de anticuerpo (o fragmentos de las mismas), incluyéndose dicha(s) molécula(s) de ácido nucleico en un único vector o vectores separados, y estando dicha(s) molécula(s) de ácido nucleico presente(s) en una o más localizaciones en una célula huésped.

"Ácido nucleico aislado que codifica un anticuerpo anti-CD3" se refiere a una o más moléculas de ácido nucleico que codifican las cadenas pesada y ligera de anticuerpo (o fragmentos de las mismas), incluyéndose dicha(s) molécula(s) de ácido nucleico en un único vector o vectores separados, y estando dicha(s) molécula(s) de ácido nucleico presente(s) en una o más localizaciones en una célula huésped.

El término "vector", como se usa en el presente documento, se refiere a una molécula de ácido nucleico que puede propagar otro ácido nucleico al que se enlaza. El término incluye el vector como una estructura de ácido nucleico autorreplicante, así como el vector incorporado en el genoma de una célula huésped en la que se ha introducido. Determinados vectores pueden dirigir la expresión de los ácidos nucleicos a los que se enlazan funcionalmente. Dichos vectores se denominan en el presente documento "vectores de expresión".

Los términos "célula huésped", "línea de células huésped" y "cultivo de células huésped" se usan de manera intercambiable y se refieren a células en las que se ha introducido ácido nucleico exógeno, incluyendo la descendencia de dichas células. Las células huésped incluyen "transformantes" y "células transformadas" que incluyen la célula transformada primaria y la descendencia derivada de la misma independientemente del número de pases. La descendencia puede que no sea completamente idéntica en el contenido de ácido nucleico a una célula original, sino que puede contener mutaciones. En el presente documento se incluye la descendencia mutante que tiene la misma función o actividad biológica que la cribada o seleccionada en la célula transformada originalmente.

"Porcentaje (%) de identidad de secuencia de aminoácidos" con respecto a una secuencia de polipéptido de referencia se define como el porcentaje de residuos de aminoácido en una secuencia candidata que son idénticos a los residuos de aminoácido en la secuencia de polipéptido de referencia, después de alinear las secuencias e introducir huecos, si fuera necesario, para lograr el máximo porcentaje de identidad de secuencia, y sin tener en consideración ninguna sustitución conservadora como parte de la identidad de secuencia. Se puede lograr la alineación para los propósitos de determinación del porcentaje de identidad de secuencia de aminoácidos de diversos modos que están dentro de la habilidad en la técnica, por ejemplo, usando un programa informático disponible públicamente, tal como el programa informático BLAST, BLAST-2, ALIGN o Megalign (DNASTAR). Los expertos en la técnica pueden determinar los parámetros apropiados para alinear secuencias, incluyendo cualquier algoritmo necesario para lograr la alineación máxima sobre la longitud completa de las secuencias que se comparan. Sin embargo, para los propósitos en el presente documento, se generan valores de % de identidad de secuencia de aminoácidos usando el programa de ordenador de comparación de secuencias ALIGN-2. El programa de ordenador de comparación de secuencias ALIGN-2 se creó por Genentech, Inc., y el código fuente se ha presentado con la documentación de usuario en la Oficina de Derechos de Autor de EE. UU., Washington D.C., 20559, donde se ha registrado con el n.º de registro de derechos de autor de EE. UU. TXU510087. El programa ALIGN-2 está disponible públicamente de Genentech, Inc., South San Francisco, California, o se puede compilar a partir del código fuente. El programa ALIGN-2 se debe compilar para su uso en un sistema operativo UNIX, incluyendo UNIX V4.0D digital. Todos los parámetros de comparación de secuencias se establecen mediante el programa ALIGN-2 y no varían.

En situaciones donde se emplea ALIGN-2 para las comparaciones de secuencias de aminoácidos, el % de identidad de secuencia de aminoácidos de una secuencia de aminoácidos A dada con respecto a, con o frente a una secuencia de aminoácidos B dada (que, de forma alternativa, se puede parafrasear como una secuencia de aminoácidos A dada que tiene o comprende un determinado % de identidad de secuencia de aminoácidos con respecto a, con o frente a una secuencia de aminoácidos B dada) se calcula como sigue:

$$100 \text{ por la fracción } X/Y$$

donde X es el número de residuos de aminoácido puntuados como emparejamientos idénticos mediante el programa de alineación de secuencias ALIGN-2 en esa alineación del programa de A y B, y donde Y es el número total de residuos de aminoácido en B. Se apreciará que si la longitud de la secuencia de aminoácidos A no es igual a la longitud de la secuencia de aminoácidos B, el % de identidad de secuencia de aminoácidos de A con respecto a B no igualará el % de identidad de secuencia de aminoácidos de B con respecto a A. A menos que se establezca específicamente de otro modo, todos los valores de % de identidad de secuencia de aminoácidos usados en el presente documento se obtienen como se describe en el párrafo inmediatamente precedente usando el programa de ordenador ALIGN-2.

El término "formulación farmacéutica" se refiere a una preparación que está en una forma tal que permite que la actividad biológica de un ingrediente activo contenido en la misma sea eficaz, y que no contiene ningún componente adicional que sea inaceptablemente tóxico para un sujeto al que se le administraría la formulación.

Un "vehículo farmacéuticamente aceptable" se refiere a un ingrediente de una formulación farmacéutica, distinto de un ingrediente activo, que no es tóxico para un sujeto. Un vehículo farmacéuticamente aceptable incluye, pero no se limita a, un tampón, excipiente, estabilizante o conservante.

Una "cantidad eficaz" de un agente, por ejemplo, una formulación farmacéutica, se refiere a una cantidad eficaz, en las dosificaciones y durante periodos de tiempo necesarios, para lograr el resultado terapéutico o profiláctico deseado. Una cantidad eficaz en el presente documento puede variar de acuerdo con factores tales como la enfermedad, la edad, el sexo y el peso del paciente, y la capacidad del anticuerpo de provocar una respuesta deseada en el individuo.

Una cantidad eficaz también es una en la que cualquier efecto tóxico o perjudicial del tratamiento se compensa con los efectos terapéuticamente beneficiosos. Para uso profiláctico, los resultados beneficiosos o deseados incluyen resultados tales como eliminar o reducir el riesgo, disminuir la gravedad o retrasar la aparición de la enfermedad, incluyendo los síntomas bioquímicos, histológicos y/o de comportamiento de la enfermedad, sus complicaciones y fenotipos patológicos intermedios que se presentan durante el desarrollo de la enfermedad. Para uso terapéutico, los resultados beneficiosos o deseados incluyen resultados clínicos tales como la disminución de uno o más síntomas que resultan de la enfermedad, el incremento de la calidad de vida de los que padecen la enfermedad, la disminución de la dosis de otros medicamentos requeridos para tratar la enfermedad, la potenciación del efecto de otro medicamento, tal como por medio de la selección como diana, el retraso de la progresión de la enfermedad y/o la prolongación de la supervivencia. En el caso de cáncer o tumor, una cantidad eficaz del fármaco puede tener el efecto en la reducción del número de células cancerosas; la reducción del tamaño tumoral; la inhibición (es decir, ralentizar en cierto grado o deseablemente detener) la infiltración de células cancerosas en órganos periféricos; la inhibición (es decir, ralentizar en cierto grado y deseablemente detener) la metástasis de tumores; la inhibición en cierto grado del crecimiento de tumores; y/o el alivio en cierto grado de uno o más de los síntomas asociados con el trastorno. Se puede administrar una cantidad eficaz en una o más administraciones. Para los propósitos de la presente invención, una cantidad eficaz de fármaco, compuesto o composición farmacéutica es una cantidad suficiente para conseguir un tratamiento profiláctico o terapéutico directa o bien indirectamente. Como se entiende en el contexto clínico, una cantidad eficaz de un fármaco, compuesto o composición farmacéutica se puede lograr o no junto con otro fármaco, compuesto o composición farmacéutica. Por tanto, se puede considerar una "cantidad eficaz" en el contexto de la administración de uno o más agentes terapéuticos, y se puede considerar que un único agente se administre en una cantidad eficaz si, junto con uno o más de otros agentes, se puede lograr o se logra un resultado deseable.

Como se usa en el presente documento, "tratamiento" (y las variaciones gramaticales del mismo, tales como "tratar" o "que trata") se refiere a la intervención clínica en un intento de alterar la evolución natural del individuo que se trata, y que se puede realizar para la profilaxis o bien durante la evolución de una patología clínica. Los efectos deseables del tratamiento incluyen, pero no se limitan a, la prevención de la aparición o recaída de la enfermedad, el alivio de los síntomas, la reducción de cualquier consecuencia patológica directa o indirecta de la enfermedad, la prevención de las metástasis, la disminución de la tasa de progresión de la enfermedad, la mejora o atenuación de la enfermedad y la remisión o el pronóstico mejorado. En algunos modos de realización, se usan los anticuerpos de la invención para retrasar el desarrollo de una enfermedad o para ralentizar la progresión de una enfermedad.

Como se usa en el presente documento, "retrasar la progresión" de un trastorno o enfermedad significa aplazar, dificultar, ralentizar, retardar, estabilizar y/o posponer el desarrollo de la enfermedad o trastorno (por ejemplo, un trastorno proliferativo celular, por ejemplo, cáncer). Este retraso puede tener duraciones de tiempo variables, dependiendo de los antecedentes de la enfermedad y/o del individuo que se trata. Como es evidente para un experto en la técnica, en efecto, un retraso suficiente o significativo puede englobar la prevención, en tanto que el individuo no desarrolla la enfermedad. Por ejemplo, se puede retrasar un cáncer en estadio tardío, tal como el desarrollo de metástasis.

Por "reducir" o "inhibir" se quiere decir la capacidad de provocar una disminución global, por ejemplo, de un 20 % o más, de un 50 % o más, o de un 75 %, 85 %, 90 %, 95 % o más. En determinados aspectos de la divulgación, reducir o inhibir puede hacer referencia a la función efectora de un anticuerpo que está mediada por la región Fc de anticuerpo, incluyendo específicamente dichas funciones efectoras la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC), la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) y la fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP).

Un "agente quimioterápico" se refiere a un compuesto químico útil en el tratamiento del cáncer. Los ejemplos de agentes quimioterápicos incluyen agentes alquilantes, tales como tiotepa y ciclofosfamida (CYTOXAN®); sulfonatos de alquilo, tales como busulfano, improsulfano y piposulfano; aziridinas, tales como benzodopa, carboquona, meturedopa y uredopa; etileniminas y metilamelaminas, incluyendo altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilenfosforamida y trimetilmelamina; acetogeninas (especialmente bulatacina y bulatacinona); delta-9-tetrahidrocanabinol (dronabinol, MARINOL®); beta-lapachona; lapachol; colquicinas; ácido betulínico; una camptotecina (incluyendo el análogo sintético topotecán) (HYCAMTIN®), CPT-11 (irinotecán, CAMPTOSAR®), acetilcamptotecina, escopolectina y 9-aminocamptotecina); briostatina; calistatina; CC-1065 (incluyendo sus análogos sintéticos adozelesina, carzelesina y bizelesina); podofilotoxina; ácido podofilínico; tenipósido; criptoficinas (en particular, criptoficina 1 y criptoficina 8); dolastatina; duocarmicina (incluyendo los análogos sintéticos, KW-2189 y CB1-TM1); eleuterobina; pancratistatina; una sarcodictina; espongiostatina; mostazas nitrogenadas, tales como clorambucilo, clornafazina, clorofosfamida, estramustina, ifosfamida, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, melfalán, novembiquina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, uramustina; nitrosoureas, tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina y ranimustina; antibióticos, tales como los antibióticos enodiinos (por ejemplo, calicheamicina, especialmente calicheamicina gamma 11 y calicheamicina omega 11 (véase, por ejemplo, Nicolaou *et al.*, *Angew. Chem Intl. Ed. Engl.*, 33: 183-186 (1994)); CDP323, un inhibidor oral de la integrina alfa-4, dinemicina, incluyendo dinemicina A; una esperamicina; así como el cromóforo neocarzinostatina y cromóforos de antibióticos enodiinos de cromoproteínas relacionados), aclacinomisinas, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, carabicina, carminomicina, carzinofilina, cromomicinas, dactinomicina, daunorrubicina, detorrubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, doxorubicina (incluyendo ADRIAMYCIN®, morfolino-doxorrubicina, cianomorfolino-doxorrubicina, 2-pirrolino-doxorrubicina, inyección de liposomas de doxorubicina HCl

(DOXIL®), doxorubicina liposómica TLC D-99 (MYOCET®), doxorubicina liposómica pegilada (CAELYX®) y desoxidoxorubicina, epirubicina, esorubicina, idarrubicina, marcelomicina, mitomicinas, tales como mitomicina C, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, porfiromicina, puomicina, quelamicina, rodorrubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorrubicina; antimetabolitos, tales como metotrexato, gemcitabina (GEMZAR®), tegafur (UFTORAL®), capecitabina (XELODA®), una epotilona y 5-fluorouracilo (5-FU); análogos del ácido fólico, tales como denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato; análogos de purina, tales como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamiprina, tioguanina; análogos de pirimidina, tales como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, didesoxiuridina, doxifluridina, encocitabina, floxuridina; andrógenos, tales como calusterona, propionato de dromostanolona, epitioestano, mepitioestano, testolactona; agentes antiadrenales, tales como aminoglutetimida, mitotano, trilostano; reponedores de ácido fólico, tal como ácido frolinico; aceglatona; glucósido de aldofosfamida; ácido aminolevulínico; eniluracilo; amsacrina; bestrabucilo; bisantreno; edatraxato; defofamina, demecolcina diaziquona; elfomitina; acetato de eliptinio; una epotilona; etoglúcido; nitrato de galio; hidroxiaurea; lentinano, lonidamina; maitansinoides, tales como maitansina y ansamitocinas; mitoguaazona; mitoxantrona; mopidanmol; nitraerina; pentostatina; phenamet, pirarrubicina; losoxantrona; 2-etilhidracida; procarbacin; complejo de polisacárido PSK® (JHS Natural Products, Eugene, OR); razoxano; rizoxina; sizofirán; espirogermanio; ácido tenuazónico; triaziquona; 2,2',2'-triclorotrietilamina; tricotecenos (especialmente toxina T-2, verracurina A, roridina A y anguidina); uretano, vindesina (ELDISINE®, FILDESIN®); dacarbacin; mannomustina; mitobronitol; mitolactol; pipobromano; gacitocina; arabinósido ("Ara-C"); tiotepa; taxoides, por ejemplo, paclitaxel (TAXOL®), formulación de nanopartículas genomanipuladas con albúmina de paclitaxel (ABRAXANETM) y docetaxel (TAXOTERE®); clorambucilo; 6-tioguanina; mercaptopurina; metotrexato; agentes de platino, tales como cisplatino, oxaliplatino (por ejemplo, ELOXATIN®) y carboplatino; vincas, que previenen que la polimerización de tubulina forme microtúbulos, incluyendo vinblastina (VELBAN®), vincristina (ONCOVIN®), vindesina (ELDISINE®, FILDESIN®) y vinorelbina (NAVELBINE®); etopósido (VP-16); ifosfamida; mitoxantrona; ácido folínico; novantrona; edatrexato; daunomicina; aminopterina; ibandronato; inhibidor de topoisomerasa RFS 2000; difluorometilornitina (DMFO); retinoides, tales como ácido retinoico, incluyendo bexaroteno (TARGRETIN®); bifosfonatos, tales como clodronato (por ejemplo, BONEFOS® u OSTAC®), etidronato (DIDROCAL®), NE-58095, ácido zoledrónico/zoledronato (ZOMETA®), alendronato (FOSAMAX®), pamidronato (ARELIA®), tiludronato (SKELID®) o risedronato (ACTONEL®); troxacitabina (un análogo de 1,3-dioxolano nucleósido citosina); oligonucleótidos antisentido, en particular, aquellos que inhiben la expresión de genes en vías de señalización implicadas en la proliferación celular anómala, tales como, por ejemplo, PKC-alfa, Raf, H-Ras y el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGF-R); vacunas, tales como la vacuna THERATOPE® y las vacunas de tratamiento génico, por ejemplo, la vacuna ALLOVECTIN®, la vacuna LEUVECTIN® y la vacuna VAXID®; inhibidor de topoisomerasa 1 (por ejemplo, LURTOTECAN®); mRHR (por ejemplo, ABARELIX®); BAY439006 (sorafenib; Bayer); SU-11248 (sunitinib, SUTENT®, Pfizer); perifosina, inhibidor de COX-2 (por ejemplo, celecoxib o etoricoxib), inhibidor de proteosoma (por ejemplo, PS341); bortezomib (VELCADE®); CCI-779; tipifarnib (R11577); orafenib, ABT510; inhibidor de Bcl-2, tal como oblimersen sódico (GENASENSE®); pixantrona; inhibidores de EGFR (véase la definición a continuación); inhibidores de tirosina cinasa; inhibidores de serina-treonina cinasa, tales como rapamicina (sirolimus, RAPAMUNE®); inhibidores de farnesiltransferasa, tales como lonafarnib (SCH 6636, SARASARTM); y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores; así como combinaciones de dos o más de los anteriores, tales como CHOP, una abreviatura para una politerapia de ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisolona; y FOLFOX, una abreviatura para una pauta de tratamiento con oxaliplatino (ELOXATINTM) combinado con 5-FU y ácido folínico.

Los agentes quimioterápicos como se define en el presente documento incluyen "agentes antihormonales" o "tratamientos endocrinos" que actúan para regular, reducir, bloquear o inhibir los efectos de las hormonas que pueden promover el crecimiento del cáncer. Pueden ser hormonas por sí mismos, incluyendo, pero sin limitarse a: antiestrógenos con perfil mixto agonista/antagonista, incluyendo tamoxifeno (NOLVADEX®), 4-hidroxitamoxifeno, toremifeno (FARESTON®), idoxifeno, droloxifeno, raloxifeno (EVISTA®), trioxifeno, keoxifeno y moduladores selectivos del receptor de estrógenos (SERM), tales como SERM3; antiestrógenos puros sin propiedades agonistas, tales como fulvestrant (FASLODEX®) y EM800 (dichos agentes pueden bloquear la dimerización del receptor de estrógenos (RE), inhibir la unión al ADN, incrementar el recambio del RE y/o suprimir los niveles del RE); inhibidores de aromatasa, incluyendo inhibidores esteroideos de aromatasa, tales como formestano y exemestano (AROMASIN®), e inhibidores no esteroideos de aromatasa, tales como anastrozol (ARIMIDEX®), letrozol (FEMARA®) y aminoglutetimida, y otros inhibidores de aromatasa incluyen vorozol (RIVISOR®), acetato de megestrol (MEGASE®), fadrozol y 4(5)-imidazoles; agonistas de la hormona liberadora de la hormona luteinizante, incluyendo leuprorelina (LUPRON® y ELIGARD®), goserelina, buserelina y triptorelina; esteroides sexuales, incluyendo progestinas, tales como acetato de megestrol y acetato de medroxiprogesterona, estrógenos, tales como dietilestilbestrol y premarina, y andrógenos/retinoides, tales como fluoximesterona, todo el ácido transretiónico y fenretinida; onapristona; antiprogesteronas; reguladores por disminución de los receptores de estrógenos (DRE); antiandrógenos, tales como flutamida, nilutamida y bicalutamida; y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores; así como combinaciones de dos o más de los anteriores.

El término "agente inmunodepresor" como se usa en el presente documento para el tratamiento complementario se refiere a sustancias que actúan deprimiendo o enmascarando el sistema inmunitario del mamífero que se trata en el presente documento. Esto incluiría sustancias que suprimen la producción de citocinas, regulan por disminución o suprimen la expresión de antígenos propios o enmascaran los antígenos del MHC. Los ejemplos de dichos agentes

incluyen pirimidinas 2-amino-6-aryl-5-sustituidas (véase la pat. de EE. UU. n.º 4.665.077); fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE); ganciclovir, tacrolimus, glucocorticoides, tales como cortisol o aldosterona, agentes antiinflamatorios, tales como un inhibidor de ciclooxigenasa, un inhibidor de 5-lipoxigenasa o un antagonista del receptor de leucotrienos; antagonistas de purina, tales como azatioprina o mofetilato de mofetil (MMF); agentes alquilantes, tales como ciclofosfamida; bromocriptina; danazol; dapsona; glutaraldehído (que enmascara los antígenos del MHC, como se describe en la pat. de EE. UU. n.º 4.120.649); anticuerpos antiidiotípicos para antígenos del MHC y fragmentos del MHC; ciclosporina A; esteroides, tales como corticoesteroides o glucocorticosteroides o análogos de glucocorticoides, por ejemplo, prednisona, metilprednisolona, incluyendo succinato sódico de metilprednisolona SOLU-MEDROL® y dexametasona; inhibidores de dihidrofolato reductasa, tales como metotrexato (oral o subcutáneo); agentes antipalúdicos, tales como cloroquina e hidroxicloroquina; sulfasalazina; leflunomida; anticuerpos frente a citocinas o al receptor de citocinas, incluyendo anticuerpos anti interferón alfa, beta o gamma, anticuerpos anti factor de necrosis tumoral (TNF)-alfa (infiximab (REMICADE®) o adalimumab), inmunoadhesina anti-TNF-alfa (etanercept), anticuerpos anti-TNF-beta, anticuerpos anti interleucina-2 (IL-2) y anticuerpos anti receptor de IL-2, y anticuerpos y antagonistas anti receptor de interleucina-6 (IL-6) (tales como ACTEMRA™ (tocilizumab)); anticuerpos anti-LFA-1, incluyendo anticuerpos anti-CD11a y anti-CD18; anticuerpos anti-L3T4; globulina antilinfocitos heteróloga; anticuerpos pan-T, preferentemente anticuerpos anti-CD3 o anti-CD4/CD4a; péptido soluble que contiene un dominio de unión a LFA-3 (documento WO 90/08187, publicado el 26/7/90); estreptocinasa; factor de crecimiento y transformación beta (TGF-beta); estreptodornasa; ARN o ADN del huésped; FK506; RS-61443; clorambucilo; desoxiespergualina; rapamicina; receptor de linfocitos T (Cohen *et al.*, pat. de EE. UU. n.º 5.114.721); fragmentos del receptor de linfocitos T (Offner *et al.*, *Science*, 251: 430-432 (1991); documento WO 90/11294; laneway, *Nature*, 341: 482 (1989); y documento WO 91/01133); antagonistas de BAFF, tales como anticuerpos frente a BAFF y anticuerpos frente a BR3 y antagonistas de zTNF4 (para una revisión, véase Mackay y Mackay, *Trends Immunol.*, 23:113-5 (2002) y véase también la definición a continuación); agentes biológicos que interfieren en las señales auxiliares de los linfocitos T, tales como el receptor anti-CD40 o el ligando anti-CD40 (CD154), incluyendo los anticuerpos de bloqueo con respecto al ligando CD40-CD40 (por ejemplo, Durie *et al.*, *Science*, 261: 1328-30 (1993); Mohan *et al.*, *J. Immunol.*, 154: 1470-80 (1995)) y CTLA4-Ig (Finck *et al.*, *Science*, 265: 1225-7 (1994)); y anticuerpos frente al receptor de linfocitos T (documento EP 340.109), tales como T10B9. Algunos agentes inmunodepresores preferentes en el presente documento incluyen ciclofosfamida, clorambucilo, azatioprina, leflunomida, MMF o metotrexato.

El término "antagonista de unión al eje de PD-1" se refiere a una molécula que inhibe la interacción de un compañero de unión al eje de PD-1 con uno o bien más de sus compañeros de unión, para eliminar la disfunción de los linfocitos T que resulta de la señalización en el eje de señalización de PD-1, siendo un resultado el restablecimiento o potenciación de la función de los linfocitos T (por ejemplo, la proliferación, producción de citocinas, destrucción de las células diana). Como se usa en el presente documento, un antagonista de unión al eje de PD-1 incluye un antagonista de unión a PD-1, un antagonista de unión a PD-L1 y un antagonista de unión a PD-L2.

El término "antagonistas de unión a PD-1" se refiere a una molécula que disminuye, bloquea, inhibe, anula o interfiere en la transducción de señales que resulta de la interacción de PD-L1 con uno o más de sus compañeros de unión, tales como PD-L1, PD-L2. En algunos aspectos de la divulgación, el antagonista de unión a PD-1 es una molécula que inhibe la unión de PD-1 a uno o más de sus compañeros de unión. En un aspecto específico, el antagonista de unión a PD-1 inhibe la unión de PD-1 a PD-L1 y/o PD-L2. Por ejemplo, los antagonistas de unión a PD-1 incluyen anticuerpos anti-PD-1, fragmentos de unión a antígeno de los mismos, inmunoadhesinas, proteínas de fusión, oligopéptidos y otras moléculas que disminuyen, bloquean, inhiben, anulan o interfieren en la transducción de señales resultante de la interacción de PD-1 con PD-L1 y/o PD-L2. En un aspecto de la divulgación, un antagonista de unión a PD-1 reduce la señal coestimuladora negativa mediada por o a través de proteínas en la superficie celular expresadas en la señalización mediada por linfocitos T a través de PD-1 para hacer que un linfocito T disfuncional sea menos disfuncional (por ejemplo, potenciar las respuestas efectoras al reconocimiento antigénico). En algunos aspectos de la divulgación, el antagonista de unión a PD-1 es un anticuerpo anti-PD-1. En un aspecto específico, un antagonista de unión a PD-1 es MDX-1106 (nivolumab), descrito en el presente documento. En otro aspecto específico, un antagonista de unión a PD-1 es MK-3475 (lambrolizumab), descrito en el presente documento. En otro aspecto específico, un antagonista de unión a PD-1 es CT-011 (pidilizumab), descrito en el presente documento. En otro aspecto específico, un antagonista de unión a PD-1 es AMP-224, descrito en el presente documento.

El término "antagonista de unión a PD-L1" se refiere a una molécula que disminuye, bloquea, inhibe, anula o interfiere en la transducción de señales que resulta de la interacción de PD-L1 con uno o bien más de sus compañeros de unión, tales como PD-1, B7-1. En algunos aspectos de la divulgación, un antagonista de unión a PD-L1 es una molécula que inhibe la unión de PD-L1 a sus compañeros de unión. En un aspecto específico, el antagonista de unión a PD-L1 inhibe la unión de PD-L1 a PD-1 y/o B7-1. En algunos aspectos de la divulgación, los antagonistas de unión a PD-L1 incluyen anticuerpos anti-PD-L1, fragmentos de unión a antígeno de los mismos, inmunoadhesinas, proteínas de fusión, oligopéptidos y otras moléculas que disminuyen, bloquean, inhiben, anulan o interfieren en la transducción de señales resultante de la interacción de PD-L1 con uno o más de sus compañeros de unión, tales como PD-1, B7-1. En un aspecto de la divulgación, un antagonista de unión a PD-L1 reduce la señal coestimuladora negativa mediada por o a través de proteínas en la superficie celular expresadas en la señalización mediada por linfocitos T a través de PD-L1 para hacer que un linfocito T disfuncional sea menos disfuncional (por ejemplo, potenciar las respuestas efectoras al reconocimiento antigénico). En algunos aspectos de la divulgación, un antagonista de unión a PD-L1 es un anticuerpo anti-PD-L1. En un aspecto específico, un anticuerpo anti-PD-L1 es YW243.55.S70, descrito en el

presente documento. En otro aspecto específico, un anticuerpo anti-PD-L1 es MDX-1105, descrito en el presente documento. Todavía en otro aspecto específico, un anticuerpo anti-PD-L1 es MPDL3280A, descrito en el presente documento. Todavía en otro aspecto específico, un anticuerpo anti-PD-L1 es MEDI4736, descrito en el presente documento.

5 El término "antagonistas de unión a PD-L2" se refiere a una molécula que disminuye, bloquea, inhibe, anula o interfiere en la transducción de señales que resulta de la interacción de PD-L2 con uno o bien más de sus compañeros de unión, tales como PD-1. En algunos aspectos de la divulgación, un antagonista de unión a PD-L2 es una molécula que inhibe la unión de PD-L2 a uno o más de sus compañeros de unión. En un aspecto específico, el antagonista de
10 unión a PD-L2 inhibe la unión de PD-L2 a PD-1. En algunos aspectos de la divulgación, los antagonistas de unión a PD-L2 incluyen anticuerpos anti-PD-L2, fragmentos de unión a antígeno de los mismos, inmunoadhesinas, proteínas de fusión, oligopéptidos y otras moléculas que disminuyen, bloquean, inhiben, anulan o interfieren en la transducción de señales resultante de la interacción de PD-L2 con uno o bien más de sus compañeros de unión, tales como PD-1. En un aspecto de la divulgación, un antagonista de unión a PD-L2 reduce la señal coestimuladora negativa mediada por o a través de proteínas en la superficie celular expresadas en la señalización mediada por linfocitos T a través de PD-L2 para hacer que un linfocito T disfuncional sea menos disfuncional (por ejemplo, potenciar las respuestas efectoras al reconocimiento antigénico). En algunos aspectos de la divulgación, un antagonista de unión a PD-L2 es una inmunoadhesina.

20 El término "tumor" se refiere a todo crecimiento y proliferación de células neoplásicas, ya sea maligno o benigno, y a todas las células y tejidos precancerosos y cancerosos. Los términos "cáncer", "canceroso", "trastorno proliferativo celular", "trastorno proliferativo" y "tumor" no son mutuamente excluyentes como se hace referencia en el presente documento.

25 Los términos "trastorno proliferativo celular" y "trastorno proliferativo" se refieren a trastornos que se asocian con algún grado de proliferación celular anómala. En un aspecto de la divulgación, el trastorno proliferativo celular es cáncer.

Los términos "cáncer" y "canceroso" se refieren a o describen la condición fisiológica en los mamíferos que se caracteriza típicamente por un crecimiento/proliferación de células no regulado. Los ejemplos de cáncer incluyen, pero
30 no se limitan a, carcinoma, linfoma (por ejemplo, linfoma hodgkiniano y no hodgkiniano), blastoma, sarcoma y leucemia.

El término "trastorno proliferativo de linfocitos B" se refiere a trastornos que se asocian con algún grado de proliferación de linfocitos B anómala. En un aspecto de la divulgación, el trastorno proliferativo de linfocitos B es cáncer.

35 El "trastorno proliferativo de linfocitos B" incluye enfermedad de Hodgkin, incluyendo la enfermedad de Hodgkin con predominio linfocítico (EHPL); linfoma no hodgkiniano (LNH); linfomas de células centrolímbicas (CCF); leucemia linfocítica aguda (LLA); leucemia linfocítica crónica (LLC); y tricoleucemia. El linfoma no hodgkiniano incluye linfoma no hodgkiniano (LNH) de grado bajo/folicular, LNH linfocítico pequeño (LP), LNH de grado intermedio/folicular, LNH difuso de grado intermedio, LNH inmunoblástico de grado alto, LNH linfoblástico de grado alto, LNH de células pequeñas no hendidas de grado alto, LNH con gran masa tumoral, linfoma linfocítico plasmocitoide, linfoma de células del manto, linfoma relacionado con el sida y macroglobulinemia de Waldenström. También se contempla el tratamiento de las recidivas de estos cánceres. La EHPL es un tipo de enfermedad de Hodgkin que tiende a ser recidivante con frecuencia a pesar del tratamiento con radiación o quimioterapia. La LLC es uno de los cuatro tipos principales de leucemia. Un cáncer de los linfocitos llamados linfocitos B maduros, la LLC, se manifiesta mediante la acumulación progresiva de células en la sangre, la médula ósea y los tejidos linfáticos. El linfoma de escasa malignidad es una enfermedad incurable de crecimiento lento en la que el paciente promedio sobrevive entre seis y 10 años tras numerosos periodos de remisión y recidiva.

50 El término "linfoma no hodgkiniano" o "LNH", como se usa en el presente documento, se refiere a un cáncer del sistema linfático distinto de los linfomas hodgkinianos. Los linfomas hodgkinianos se pueden distinguir en general de los linfomas no hodgkinianos por la presencia de células de Reed-Sternberg en los linfomas hodgkinianos y la ausencia de dichas células en los linfomas no hodgkinianos. Los ejemplos de linfomas no hodgkinianos englobados por el término como se usa en el presente documento incluyen cualquiera que se identificara como tal por un experto en la técnica (por ejemplo, un oncólogo o patólogo) de acuerdo con los sistemas de clasificación conocidos en la técnica, tales como el esquema Revised European-American Lymphoma (REAL) como se describe en Color Atlas of Clinical Hematology, tercera edición; A. Victor Hoffbrand y John E. Pettit (eds.) (Harcourt Publishers Limited 2000) (véase, en particular, la fig. 11.57, 11.58 y/u 11.59). Los ejemplos más específicos incluyen, pero no se limitan a, LNH recidivante o insensible al tratamiento, LNH de grado bajo de primera línea, LNH en estadio III/IV, LNH resistente a quimioterapia, leucemia y/o linfoma linfoblástico de linfocitos B precursores, linfoma linfocítico pequeño, leucemia linfocítica crónica de linfocitos B y/o leucemia prolinfocítica y/o linfoma linfocítico pequeño, linfoma prolinfocítico de linfocitos B, inmunocitoma y/o linfoma linfoplasmocítico, linfoma de linfocitos B de la zona marginal, linfoma esplénico de la zona marginal, linfoma extraganglionar de la zona marginal de TLAM, linfoma ganglionar de la zona marginal, tricoleucemia, plasmocitoma y/o mieloma de células plasmáticas, linfoma de grado bajo/folicular, LNH de grado intermedio/folicular, linfoma de células del manto, linfoma centrolímbico (folicular), LNH difuso de grado intermedio, linfoma difuso de linfocitos B grandes, LNH de gran malignidad (incluyendo LNH de gran malignidad de primera línea

5 y LNH recidivante de gran malignidad), LNH recidivante después del trasplante de células madre autólogas o insensible al tratamiento con el mismo, linfoma mediastínico primario de linfocitos B grandes, linfoma de efusión primario, LNH inmunoblástico de grado alto, LNH linfoblástico de grado alto, LNH de células pequeñas no hendidas de grado alto, LNH con gran masa tumoral, linfoma de Burkitt, leucemia y/o linfoma linfoblástico (periférico) de linfocitos T precursores, linfoma y/o leucemia de linfocitos T del adulto, leucemia linfocítica crónica de linfocitos T y/o leucemia prolinfocítica, leucemia linfocítica de linfocitos grandes granulares, micosis fungoide y/o síndrome de Sezary, linfoma extraganglionar de linfocitos T/citotóxicos naturales (de tipo nasal), linfoma de linfocitos T de tipo enteropatía, linfoma hepatoesplénico de linfocitos T, linfoma subcutáneo de linfocitos T similar a paniculitis, linfomas de la piel (cutáneos), linfoma anaplásico de células grandes, linfoma angiocéntrico, linfoma intestinal de linfocitos T, linfoma periférico de linfocitos T (de otro modo no especificado) y linfoma angioinmunoblástico de linfocitos T.

15 Un "individuo" o "sujeto" es un mamífero. Los mamíferos incluyen, pero no se limitan a, animales domesticados (por ejemplo, vacas, ovejas, gatos, perros y caballos), primates (por ejemplo, seres humanos y primates no humanos, tales como monos), conejos y roedores (por ejemplo, ratones y ratas). En determinados aspectos de la divulgación, el individuo o sujeto es un ser humano.

20 El término "prospecto del envase" se usa para hacer referencia a las instrucciones incluidas habitualmente en los envases comerciales de productos terapéuticos que contienen información sobre las indicaciones, uso, dosificación, administración, politerapia, contraindicaciones y/o advertencias en relación con el uso de dichos productos terapéuticos.

Como se usa en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un/a", "o" y "el/la" incluyen referentes al plural a menos que el contexto lo indique claramente de otro modo.

25 La referencia a "aproximadamente" de un valor o parámetro en el presente documento incluye (y describe) variaciones que se dirigen a ese valor o parámetro *per se*. Por ejemplo, la descripción que hace referencia a "aproximadamente X" incluye la descripción de "X".

30 II. COMPOSICIONES Y PROCEDIMIENTOS

En un aspecto, la invención se basa, en parte, en anticuerpos anti-CD79b. En determinados modos de realización, se proporcionan los anticuerpos anti-CD79b que comprenden un dominio de unión a CD79b y un dominio de unión a CD3. En determinados modos de realización, los anticuerpos anti-CD79b son anticuerpos biespecíficos dependientes de linfocitos T (TDB) anti-CD79b. Los anticuerpos de la invención son útiles, por ejemplo, para el diagnóstico o tratamiento de enfermedades proliferativas de linfocitos B.

A. Anticuerpos anti-CD79b ejemplares

40 En un aspecto, la invención proporciona anticuerpos aislados que se unen a CD79b. En algunos aspectos de la divulgación de cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b, el dominio de unión a CD79b se une a la SEQ ID NO:63.

45 En algunos modos de realización de cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b, el anticuerpo anti-CD79b (por ejemplo, el dominio de unión a CD79b) se une a CD79b humana con una Kd de menos de aproximadamente 25 nM como un anticuerpo IgG bivalente con doble brazo. En algunos modos de realización de cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b, el anticuerpo anti-CD79b (por ejemplo, el dominio de unión a CD79b) se une a CD79b humana con una Kd de menos de aproximadamente 10 nM. En algunos modos de realización de cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b, el anticuerpo anti-CD79b (por ejemplo, el dominio de unión a CD79b) se une a CD79b humana con una Kd de menos de aproximadamente 5 nM. En algunos aspectos de la divulgación, se determina la Kd mediante cualquier procedimiento descrito en el presente documento, en particular, los ejemplos. En algunos aspectos de la divulgación, se determina la Kd mediante BIACORE. En algunos aspectos de la divulgación, se determina la Kd mediante CD79b inmovilizada a una densidad baja.

50 En algunos aspectos de la divulgación de cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b, el anticuerpo anti-CD79b (por ejemplo, el dominio de unión a CD79b) se une a un linfocito B (por ejemplo, una célula BJAB) a una CE₅₀ de menos de aproximadamente 150 ng/ml como un anticuerpo IgG bivalente con doble brazo. En algunos aspectos de la divulgación, la CE₅₀ es de menos de aproximadamente 100 ng/ml. En algunos aspectos de la divulgación, la CE₅₀ es de menos de aproximadamente 75 ng/ml. En algunos aspectos de la divulgación, se determina la CE₅₀ mediante cualquier procedimiento descrito en el presente documento, en particular, los ejemplos. En algunos aspectos de la divulgación, la CE₅₀ es el promedio de aproximadamente cualquiera de 5 o 10 experimentos. En algunos aspectos de la divulgación, se determina la unión a un linfocito B mediante FACS.

65 En algunos aspectos de la divulgación de cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b, el anticuerpo anti-CD79b (por ejemplo, el dominio de unión a CD79b) se une a CD79b humana que se une a un linfocito B (por ejemplo, una célula BJAB) a una CE₅₀ de menos de aproximadamente 1,5 ug/ml en un formato monovalente (por ejemplo, un anticuerpo biespecífico anti-CD79b que comprende un dominio de unión a CD79b y a CD3). En algunos aspectos de la

divulgación, la CE₅₀ es de menos de aproximadamente 1 ug/ml. En algunos aspectos de la divulgación, la CE₅₀ es de menos de aproximadamente 0,75 ug/ml. En algunos aspectos de la divulgación, la CE₅₀ es de menos de aproximadamente 0,5 ug/ml. En algunos aspectos de la divulgación, la CE₅₀ es de menos de aproximadamente 0,25 ug/ml. En algunos aspectos de la divulgación, se determina la CE₅₀ mediante cualquier procedimiento descrito en el presente documento, en particular, los ejemplos. En algunos aspectos de la divulgación, la CE₅₀ es el promedio de aproximadamente cualquiera de 5 o 10 experimentos. En algunos aspectos de la divulgación, se determina la unión a un linfocito B mediante FACS.

Anticuerpo CD79.A7 y variantes del mismo

En un aspecto, la invención proporciona un anticuerpo anti-CD79b que comprende un dominio de unión a CD79b que comprende al menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVR seleccionadas de (a) HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5; (b) HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:8; (c) HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9; (d) HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10; (e) HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:11; y (f) HVR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12. En algunos aspectos de la divulgación, HVR-H1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:3. En algunos aspectos de la divulgación, HVR-H1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4. En algunos aspectos de la divulgación, HVR-H2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:6. En algunos aspectos de la divulgación, HVR-H2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7.

En un aspecto, la descripción proporciona un anticuerpo anti-CD79b que comprende un dominio de unión a CD79b que comprende al menos una, al menos dos o las tres secuencias de HVR de VH seleccionadas de (a) HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5; (b) HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:8; y (c) HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9. En un aspecto de la divulgación, el anticuerpo comprende HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9. En otro aspecto de la divulgación, el anticuerpo comprende HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9, y HVR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12. En otro aspecto de la divulgación, el anticuerpo comprende HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9, HVR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12, y HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:8. En otro aspecto de la divulgación, el anticuerpo comprende (a) HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5; (b) HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:8; y (c) HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9. En algunos aspectos de la divulgación, HVR-H1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:3. En algunos aspectos de la divulgación, HVR-H1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4. En algunos aspectos de la divulgación, HVR-H2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:6. En algunos aspectos de la divulgación, HVR-H2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7. En otro aspecto de la divulgación, el anticuerpo comprende (a) HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:3; (b) HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:6; y (c) HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9. En otro aspecto de la divulgación, el anticuerpo comprende (a) HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4; (b) HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7; y (c) HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9.

En otro aspecto, la descripción proporciona un anticuerpo anti-CD79b que comprende un dominio de unión a CD79b que comprende al menos una, al menos dos o las tres secuencias de HVR de VL seleccionadas de (a) HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10; (b) HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:11; y (c) HVR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12. En un aspecto de la divulgación, el anticuerpo comprende (a) HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10; (b) HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:11; y (c) HVR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12.

En otro aspecto, un anticuerpo anti-CD79b de la descripción comprende un dominio de unión a CD79b que comprende en (a) un dominio VH que comprende al menos una, al menos dos o las tres secuencias de HVR de VH seleccionadas de (i) HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5, (ii) HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:8 y (iii) HVR-H3, que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO:9; y (b) un dominio VL que comprende al menos una, al menos dos o las tres secuencias de HVR de VL seleccionadas de (i) HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10, (ii) HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:11, y (c) HVR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12. En algunos aspectos de la divulgación, HVR-H1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:3. En algunos aspectos de la divulgación, HVR-H1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4. En algunos aspectos de la divulgación, HVR-H2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:6. En algunos aspectos de la divulgación, HVR-H2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7.

En otro aspecto, la invención proporciona un anticuerpo anti-CD79b que comprende un dominio de unión a CD79b que comprende (a) HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5; (b) HVR-H2, que

comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:8; (c) HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9; (d) HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10; (e) HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:11; y (f) HVR-L3, que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO:12. En otro aspecto, la invención proporciona un anticuerpo anti-CD79b que comprende un dominio de unión a CD79b que comprende (a) HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:3; (b) HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:6; (c) HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9; (d) HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10; (e) HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:11; y (f) HVR-L3, que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO:12. En otro aspecto, la invención proporciona un anticuerpo anti-CD79b que comprende un dominio de unión a CD79b que comprende (a) HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4; (b) HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7; (c) HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9; (d) HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10; (e) HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11; y (f) HVR-L3, que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO:12.

En cualquiera de los modos de realización anteriores, se humaniza un anticuerpo anti-CD79b. En un modo de realización, un anticuerpo anti-CD79b comprende HVR como en cualquiera de los aspectos anteriores de la divulgación, y comprende además una región estructural humana aceptora, por ejemplo, una región estructural de inmunoglobulina humana o una región estructural consenso humana.

En otro aspecto, un anticuerpo anti-CD79b comprende una secuencia de dominio variable de la cadena pesada (VH) que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27 y/o 29. En determinados aspectos de la divulgación, una secuencia de VH que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o deleciones en relación con la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-CD79b que comprende esa secuencia retiene la capacidad de unirse a CD79b. En determinados aspectos de la divulgación, se han sustituido, insertado y/o delecionado un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO:15, 17, 19, 21, 23, 25, 27 y/o 29. En determinados aspectos de la divulgación, las sustituciones, inserciones o deleciones se producen en regiones fuera de las HVR (es decir, en las FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD79b comprende la secuencia de VH en la SEQ ID NO:15, 17, 19, 21, 23, 25, 27 y/o 29, incluyendo las modificaciones postraduccionales de esa secuencia. En un aspecto particular de la divulgación, el VH comprende una, dos o tres HVR seleccionadas de: (a) HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5, (b) HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:8, y (c) HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9.

En otro aspecto, se proporciona un anticuerpo anti-CD79b, en el que el anticuerpo comprende un dominio variable de la cadena ligera (VL) que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 y/o 30. En determinados aspectos de la divulgación, una secuencia de VL que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o deleciones en relación con la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-CD79b que comprende esa secuencia retiene la capacidad de unirse a CD79b. En determinados aspectos de la divulgación, se han sustituido, insertado y/o delecionado un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO:16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 y/o 30. En determinados aspectos de la divulgación, las sustituciones, inserciones o deleciones se producen en regiones fuera de las HVR (es decir, en las FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD79b comprende la secuencia de VL en la SEQ ID NO:16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 y/o 30, incluyendo las modificaciones postraduccionales de esa secuencia. En un aspecto particular de la divulgación, el VL comprende una, dos o tres HVR seleccionadas de (a) HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10; (b) HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:11; y (c) HVR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12.

En otro aspecto, se proporciona un anticuerpo anti-CD79b, en el que el anticuerpo comprende un VH como en cualquiera de los aspectos de la divulgación proporcionada anteriormente, y un VL como en cualquiera de los aspectos de la divulgación proporcionada anteriormente. En un aspecto de la divulgación, el anticuerpo comprende las secuencias de VH y VL en las SEQ ID NO: 15 y SEQ ID NO:16, respectivamente, incluyendo las modificaciones postraduccionales de esas secuencias. En un modo de realización, el anticuerpo comprende las secuencias de VH y VL en las SEQ ID NO:17 y SEQ ID NO:18, respectivamente, incluyendo las modificaciones postraduccionales de esas secuencias. En un modo de realización, el anticuerpo comprende las secuencias de VH y VL en las SEQ ID NO:19 y SEQ ID NO:20, respectivamente, incluyendo las modificaciones postraduccionales de esas secuencias. En un modo de realización, el anticuerpo comprende las secuencias de VH y VL en las SEQ ID NO:21 y SEQ ID NO:22, respectivamente, incluyendo las modificaciones postraduccionales de esas secuencias. En un modo de realización, el anticuerpo comprende las secuencias de VH y VL en las SEQ ID NO:23 y SEQ ID NO:24, respectivamente, incluyendo las modificaciones postraduccionales de esas secuencias. En un modo de realización, el anticuerpo comprende las secuencias de VH y VL en las SEQ ID NO:25 y SEQ ID NO:26, respectivamente, incluyendo las modificaciones postraduccionales de esas secuencias. En un modo de realización, el anticuerpo comprende las secuencias de VH y VL en las SEQ ID NO:27 y SEQ ID NO:28, respectivamente, incluyendo las modificaciones

postraduccionales de esas secuencias. En un modo de realización, el anticuerpo comprende las secuencias de VH y VL en las SEQ ID NO:29 y SEQ ID NO:30, respectivamente, incluyendo las modificaciones postraduccionales de esas secuencias.

5 En otro aspecto, la invención proporciona un anticuerpo que se une al mismo epítipo que un anticuerpo anti-CD79b proporcionado en el presente documento. Por ejemplo, en determinados modos de realización, se proporciona un anticuerpo que se une al mismo epítipo que un anticuerpo anti-CD79b que comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 19 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:20. En determinados aspectos de la divulgación, se proporciona un anticuerpo que se une a un epítipo en un fragmento de CD79b que consiste en los aminoácidos de la SEQ ID NO:63.

10 En otro aspecto de la invención, un anticuerpo anti-CD79b de acuerdo con cualquiera de los modos de realización anteriores es un anticuerpo monoclonal, incluyendo un anticuerpo quimérico o humanizado. En un modo de realización, un anticuerpo anti-CD79b es un fragmento de anticuerpo, por ejemplo, un fragmento Fv, Fab, Fab', scFv, diacuerpo o F(ab')₂. En otro aspecto de la divulgación, el anticuerpo es un anticuerpo de longitud completa, por ejemplo, un anticuerpo IgG1 intacto u otra clase o isotipo de anticuerpo como se define en el presente documento.

Anticuerpo SN8.nuevo y variantes del mismo

20 En un aspecto, la descripción proporciona un anticuerpo anti-CD79b que comprende un dominio de unión a CD79b que comprende al menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVR seleccionadas de (a) HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31; (b) HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32; (c) HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33; (d) HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34; (e) HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35; y (f) HVR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36.

25 En un aspecto, la descripción proporciona un anticuerpo anti-CD79b que comprende un dominio de unión a CD79b que comprende al menos una, al menos dos o las tres secuencias de HVR de VH seleccionadas de (a) HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31; (b) HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32; y (c) HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33. En un aspecto de la divulgación, el anticuerpo comprende HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33. En otro aspecto de la divulgación, el anticuerpo comprende HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33, y HVR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36. En otro aspecto de la divulgación, el anticuerpo comprende HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33, HVR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36, y HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32. En otro aspecto de la divulgación, el anticuerpo comprende (a) HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31; (b) HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32; y (c) HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33.

40 En otro aspecto, la descripción proporciona un anticuerpo anti-CD79b que comprende un dominio de unión a CD79b que comprende al menos una, al menos dos o las tres secuencias de HVR de VL seleccionadas de (a) HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34; (b) HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35; y (c) HVR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36. En un aspecto de la divulgación, el anticuerpo comprende (a) HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34; (b) HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35; y (c) HVR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36.

50 En otro aspecto, un anticuerpo anti-CD79b de la descripción comprende un dominio de unión a CD79b que comprende en (a) un dominio VH que comprende al menos una, al menos dos o las tres secuencias de HVR de VH seleccionadas de (i) HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31, (ii) HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32 y (iii) HVR-H3, que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO:33; y (b) un dominio VL que comprende al menos una, al menos dos o las tres secuencias de HVR de VL seleccionadas de (i) HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, (ii) HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35, y (c) HVR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36.

55 En otro aspecto, la invención proporciona un anticuerpo anti-CD79b que comprende un dominio de unión a CD79b que comprende (a) HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31; (b) HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32; (c) HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33; (d) HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34; (e) HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35; y (f) HVR-L3, que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO:36.

65 En cualquiera de los modos de realización anteriores, se humaniza un anticuerpo anti-CD79b. En un modo de realización, un anticuerpo anti-CD79b comprende HVR como en cualquiera de los modos de realización anteriores, y comprende además una región estructural humana aceptora, por ejemplo, una región estructural de inmunoglobulina humana o una región estructural consenso humana.

En otro aspecto, un anticuerpo anti-CD79b comprende una secuencia de dominio variable de la cadena pesada (VH) que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:37. En determinados aspectos de la divulgación, una secuencia de VH que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o deleciones en relación con la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-CD79b que comprende esa secuencia retiene la capacidad de unirse a CD79b. En determinados aspectos de la divulgación, se han sustituido, insertado y/o delecionado un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO:37. En determinados aspectos de la divulgación, las sustituciones, inserciones o deleciones se producen en regiones fuera de las HVR (es decir, en las FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD79b comprende la secuencia de VH en la SEQ ID NO: 37, incluyendo modificaciones postraduccionales de esa secuencia. En un aspecto particular de la divulgación, el VH comprende una, dos o tres HVR seleccionadas de: (a) HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31, (b) HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32, y (c) HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33.

En otro aspecto, se proporciona un anticuerpo anti-CD79b, en el que el anticuerpo comprende un dominio variable de la cadena ligera (VL) que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:38. En determinados aspectos de la divulgación, una secuencia de VL que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o deleciones en relación con la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-CD79b que comprende esa secuencia retiene la capacidad de unirse a CD79b. En determinados aspectos de la divulgación, se han sustituido, insertado y/o delecionado un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO:38. En determinados aspectos de la divulgación, las sustituciones, inserciones o deleciones se producen en regiones fuera de las HVR (es decir, en las FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD79b comprende la secuencia de VL en la SEQ ID NO:38, incluyendo modificaciones postraduccionales de esa secuencia. En un aspecto particular de la divulgación, el VL comprende una, dos o tres HVR seleccionadas de (a) HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34; (b) HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35; y (c) HVR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36.

En otro aspecto, se proporciona un anticuerpo anti-CD79b, en el que el anticuerpo comprende un VH como en cualquiera de los aspectos de la divulgación proporcionada anteriormente, y un VL como en cualquiera de los aspectos de la divulgación proporcionada anteriormente. En un aspecto de la divulgación, el anticuerpo comprende las secuencias de VH y VL en la SEQ ID NO:37 y la SEQ ID NO:38, respectivamente, incluyendo las modificaciones postraduccionales de esas secuencias.

En otro aspecto de la invención, un anticuerpo anti-CD79b de acuerdo con cualquiera de los modos de realización anteriores es un anticuerpo monoclonal, incluyendo un anticuerpo quimérico o humanizado. En un modo de realización, un anticuerpo anti-CD79b es un fragmento de anticuerpo, por ejemplo, un fragmento Fv, Fab, Fab', scFv, diacuerpo o F(ab')₂. En otro modo de realización, el anticuerpo es un anticuerpo de longitud completa, por ejemplo, un anticuerpo IgG1 intacto u otra clase o isotipo de anticuerpo como se define en el presente documento.

En otro aspecto, los anticuerpos anti-CD79b de acuerdo con cualquiera de los modos de realización anteriores pueden incorporar cualquiera de los rasgos característicos, individualmente o en combinación, como se describen en las secciones 1-7 a continuación:

1. Afinidad de los anticuerpos

En determinados aspectos de la divulgación, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene una constante de disociación (Kd) de $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, $\leq 0,1 \text{ nM}$, $\leq 0,01 \text{ nM}$, o $\leq 0,001 \text{ nM}$ (por ejemplo, 10^{-8} M o menos, por ejemplo, de 10^{-8} M a 10^{-13} M , por ejemplo, de 10^{-9} M a 10^{-13} M).

En un aspecto de la divulgación, se mide la Kd mediante un ensayo de unión a antígeno radiomarcado (RIA). En un aspecto de la divulgación, se realiza un RIA con la versión de Fab de un anticuerpo de interés y su antígeno. Por ejemplo, se mide la afinidad de unión en solución de los Fab por el antígeno equilibrando los Fab con una concentración mínima de antígeno marcado con (¹²⁵I) en presencia de una serie de valoraciones de antígeno no marcado, capturando, a continuación, el antígeno unido con una placa recubierta con anticuerpo anti-Fab (véase, por ejemplo, Chen *et al.*, *J. Mol. Biol.* 293:865-881(1999)). Para establecer las condiciones para el ensayo, se recubren placas de múltiples pocillos MICROTITER® (Thermo Scientific) durante la noche con 5 µg/ml de un anticuerpo anti-Fab de captura (Cappel Fabs) en carbonato de sodio 50 mM (pH 9,6) y posteriormente se bloquea con seroalbúmina bovina al 2 % (p/v) en PBS durante de dos a cinco horas a temperatura ambiente (aproximadamente 23 °C). En una placa no adsorbente (n.º 269620, de Nunc), se mezcla [¹²⁵I]-antígeno 100 pM o 26 pM con diluciones en serie de un Fab de interés (por ejemplo, consistente con la evaluación del anticuerpo anti-VEGF, Fab-12, en Presta *et al.*, *Cancer Res.* 57:4593-4599 (1997)). A continuación, el Fab de interés se incuba durante la noche; sin embargo, la incubación puede continuar durante un periodo más largo (por ejemplo, de aproximadamente 65 horas) para garantizar que se

alcanza el equilibrio. Después de esto, se transfieren las mezclas a la placa de captura para su incubación a temperatura ambiente (por ejemplo, durante una hora). A continuación, se retira la solución y la placa se lava ocho veces con polisorbato 20 (TWEEN-20®) al 0,1 % en PBS. Cuando las placas se hayan secado, se añaden 150 µl/pocillo de centelleador (MICROSCINT-20™, Packard) y las placas se cuentan en un contador gamma TOPCOUNT™ (Packard) durante diez minutos. Se eligen concentraciones de cada Fab que dan menos de o igual a un 20 % de unión máxima para su uso en ensayos de unión competitiva.

De acuerdo con otro aspecto de la divulgación, se mide la Kd usando un ensayo de resonancia de plasmón superficial BIACORE®. Por ejemplo, se realiza un ensayo usando un BIACORE®-2000 o un BIACORE®-3000 (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ) a 25 °C con matrices CM5 con antígeno inmovilizado a ~10 unidades de respuesta (UR). En un aspecto de la divulgación, se activan matrices de biosensor con dextrano carboximetilado (CM5, BIAcore, Inc.) con clorhidrato de N-etil-N'-(3-dimetilaminopropil)-carbodiimida (EDC) y N-hidroxisuccinimida (NHS) de acuerdo con las instrucciones del proveedor. El antígeno se diluye con acetato de sodio 10 mM, pH 4,8, hasta 5 µg/ml (~0,2 µM) antes de su inyección a un caudal de 5 µl/minuto para lograr aproximadamente 10 unidades de respuesta (UR) de proteína acoplada. Tras la inyección del antígeno, se inyecta etanolamina 1 M para bloquear los grupos sin reaccionar. Para las mediciones cinéticas, se inyectan diluciones en serie en dos veces de Fab (de 0,78 nM a 500 nM) en PBS con tensioactivo polisorbato 20 (TWEEN-20™) (PBST) al 0,05 % a 25 °C a un caudal de aproximadamente 25 µl/min. Se calculan las tasas de asociación (k_{as}) y las tasas de disociación (k_{dis}) usando un simple modelo de unión uno a uno de Langmuir (programa informático de evaluación de BIACORE®, versión 3.2) ajustando simultáneamente los sensogramas de asociación y disociación. La constante de disociación en equilibrio (Kd) se calcula como la proporción k_{dis}/k_{as}. Véase, por ejemplo, Chen *et al.*, *J Mol. Biol.* 293:865-881 (1999). Si la tasa de asociación excede 106 M⁻¹ s⁻¹ mediante el ensayo de resonancia de plasmón superficial anterior, entonces, se puede determinar la tasa de asociación usando una técnica de extinción fluorescente que mide el incremento o disminución de la intensidad de emisión de fluorescencia (excitación = 295 nm; emisión = 340 nm, paso de banda de 16 nm) a 25 °C de un anticuerpo antiantígeno 20 nM (forma Fab) en PBS, pH 7,2, en presencia de concentraciones crecientes de antígeno como se mide en un espectrómetro, tal como un espectrofotómetro equipado con detención de flujo (Aviv Instruments) o un espectrofotómetro SLM-AMINCO™ de la serie 8000 (ThermoSpectronic) con una cubeta agitada.

2. Fragmentos de anticuerpo

En determinados modos de realización, un anticuerpo proporcionado en el presente documento es un fragmento de anticuerpo. Los fragmentos de anticuerpo incluyen, pero no se limitan a, los fragmentos Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv y scFv, y otros fragmentos descritos a continuación. Para una revisión de determinados fragmentos de anticuerpo, véase Hudson *et al.* *Nat. Med.* 9:129-134 (2003). Para una revisión de los fragmentos scFv, véase, por ejemplo, Pluckthün, en *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, eds. Rosenburg y Moore, (Springer-Verlag, Nueva York), pp. 269-315 (1994); véanse también el documento WO 93/16185; y las patentes de EE. UU. n.ºs 5.571.894 y 5.587.458. Para un análisis de los fragmentos Fab y F(ab')₂ que comprenden residuos de epítomos de unión al receptor de rescate y que tienen una semividua *in vivo* incrementada, véase la patente de EE. UU. n.º 5.869.046.

Los diacuerpos son fragmentos de anticuerpo con dos sitios de unión a antígeno que pueden ser bivalentes o biespecíficos. Véanse, por ejemplo, el documento EP 404,097; el documento WO 1993/01161; Hudson *et al.*, *Nat. Med.* 9:129-134 (2003); y Hollinger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448 (1993). También se describen triacuerpos y tetracuerpos en Hudson *et al.*, *Nat. Med.* 9:129-134 (2003).

Los anticuerpos de dominio único son fragmentos de anticuerpo que comprenden todo o una porción del dominio variable de la cadena pesada o todo o una porción del dominio variable de la cadena ligera de un anticuerpo. En determinados aspectos de la divulgación, un anticuerpo de dominio único es un anticuerpo de dominio único humano (Domantis, Inc., Waltham, MA; véase, por ejemplo, la patente de EE. UU. n.º 6.248.516).

Se pueden preparar fragmentos de anticuerpo mediante diversas técnicas, incluyendo, pero sin limitarse a, digestión proteolítica de un anticuerpo intacto, así como la producción mediante células huésped recombinantes (por ejemplo, *E. coli* o fago), como se describe en el presente documento.

3. Anticuerpos quiméricos y humanizados

En determinados modos de realización, un anticuerpo proporcionado en el presente documento es un anticuerpo quimérico. Se describen determinados anticuerpos quiméricos, por ejemplo, en la patente de EE. UU. n.º 4.816.567; y Morrison *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855 (1984)). En un ejemplo, un anticuerpo quimérico comprende una región variable no humana (por ejemplo, una región variable derivada de un ratón, rata, hámster, conejo o primate no humano, tal como un mono) y una región constante humana. En otro ejemplo, un anticuerpo quimérico es un anticuerpo de "clase cambiada" en el que se ha cambiado la clase o subclase de la del anticuerpo original. Los anticuerpos quiméricos incluyen fragmentos de unión a antígeno de los mismos.

En determinados modos de realización, un anticuerpo quimérico es un anticuerpo humanizado. Típicamente, se humaniza un anticuerpo no humano para reducir la inmunogenia con respecto a los seres humanos, mientras que se

retienen la especificidad y afinidad del anticuerpo no humano original. En general, un anticuerpo humanizado comprende uno o más dominios variables en los que las HVR, por ejemplo, las CDR (o porciones de las mismas), se derivan de un anticuerpo no humano y las FR (o porciones de las mismas) se derivan de secuencias de anticuerpos humanos. Un anticuerpo humanizado también comprenderá opcionalmente al menos una porción de una región constante humana. En algunos modos de realización, se sustituyen algunos residuos de FR en un anticuerpo humanizado con los residuos correspondientes de un anticuerpo no humano (por ejemplo, el anticuerpo del que se derivan los residuos de HVR), por ejemplo, para restablecer o mejorar la especificidad o afinidad del anticuerpo.

Los anticuerpos humanizados y los procedimientos de preparación de los mismos se revisan, por ejemplo, en Almagro y Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008), y se describen además, por ejemplo, en Riechmann *et al.*, *Nature* 332:323-329 (1988); Queen *et al.*, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 86:10029-10033 (1989); patentes de EE. UU. n.ºs 5.821.337, 7.527.791, 6.982.321 y 7.087.409 Kashmiri *et al.*, *Methods* 36:25-34 (2005) (que describen el injerto de regiones determinantes de la especificidad (SDR)); Padlan, *Mol. Immunol.* 28:489-498 (1991) (que describe el "rebarmizado"); Dall'Acqua *et al.*, *Methods* 36:43-60 (2005) (que describen el "barajado de FR"); y Osbourn *et al.*, *Methods* 36:61-68 (2005) y Klimka *et al.*, *Br. J. Cancer*, 83:252-260 (2000) (que describen el enfoque de "selección guiada" para el barajado de FR).

Las regiones estructurales humanas que se pueden usar para la humanización incluyen, pero no se limitan a: regiones estructurales seleccionadas usando el procedimiento de "mejor ajuste" (véase, por ejemplo, Sims *et al.* *J. Immunol.* 151:2296 (1993)); regiones estructurales derivadas de la secuencia consenso de anticuerpos humanos de un subgrupo particular de regiones variables de la cadena ligera o pesada (véanse, por ejemplo, Carter *et al.* *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992); y Presta *et al.* *J. Immunol.*, 151:2623 (1993)); regiones estructurales humanas y maduras (mutadas de forma somática) o regiones estructurales de la estirpe germinal humana (véase, por ejemplo, Almagro y Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)); y regiones estructurales derivadas del cribado de colecciones de FR (véanse, por ejemplo, Baca *et al.*, *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684 (1997) y Rosok *et al.*, *J. Biol. Chem.* 271:22611-22618 (1996)).

4. Anticuerpos humanos

En determinados aspectos de la divulgación, un anticuerpo proporcionado en el presente documento es un anticuerpo humano. Se pueden producir anticuerpos humanos usando diversas técnicas conocidas en la técnica. Se describen, en general, anticuerpos humanos en van Dijk y van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5: 368-74 (2001) y Lonberg, *Curr. Opin. Immunol.* 20:450-459 (2008).

Se pueden preparar anticuerpos humanos administrando un inmunógeno a un animal transgénico que se haya modificado para producir anticuerpos humanos intactos o anticuerpos intactos con regiones variables humanas en respuesta a la exposición antigénica. Dichos animales contienen típicamente todos o una porción de los locus de inmunoglobulina humana, que remplazan los locus de inmunoglobulina endógena, o que están presentes de forma extracromosómica o integrados aleatoriamente en los cromosomas del animal. En dichos ratones transgénicos, los locus de inmunoglobulina endógena, en general, se han inactivado. Para una revisión de los procedimientos para obtener anticuerpos humanos de animales transgénicos, véase Lonberg, *Nat. Biotech.* 23:1117-1125 (2005).

Véanse también, por ejemplo, las patentes de EE. UU. n.ºs 6.075.181 y 6.150.584, que describen la tecnología XENOMOUSE™; la patente de EE. UU. n.º 5.770.429, que describe la tecnología HuMab®; la patente de EE. UU. n.º 7.041.870, que describe la tecnología K-M MOUSE® y la publicación de solicitud de patente de EE. UU. n.º US 2007/0061900, que describe la tecnología VelociMouse®. Las regiones variables humanas de anticuerpos intactos generados por dichos animales se pueden modificar además, por ejemplo, mediante combinación con una región constante humana diferente.

También se pueden preparar anticuerpos humanos mediante procedimientos basados en hibridoma. Se han descrito líneas de células de mieloma humano y de heteromieloma humano-murino para la producción de anticuerpos monoclonales humanos. (Véanse, por ejemplo, Kozbor *J. Immunol.*, 133: 3001 (1984); Brodeur *et al.*, *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., Nueva York, 1987); y Boerner *et al.*, *J. Immunol.*, 147:86 (1991)). Los anticuerpos humanos generados por medio de tecnología de hibridoma de linfocitos B humanos también se describen en Li *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006). Los procedimientos adicionales incluyen los descritos, por ejemplo, en la patente de EE. UU. n.º 7.189.826 (que describe la producción de anticuerpos IgM humanos monoclonales a partir de líneas de células de hibridoma) y Ni, *Xiandai Mianyixue*, 26(4):265-268 (2006) (que describe hibridomas humanos-humanos). La tecnología de hibridoma humano (tecnología de trioma) también se describe en Vollmers y Brandlein, *Histology and Histopathology*, 20(3):927-937 (2005) y Vollmers y Brandlein, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 27(3):185-91 (2005).

También se pueden generar anticuerpos humanos aislando secuencias de dominio variable del clon Fv seleccionadas de colecciones de presentación en fagos derivadas de seres humanos. A continuación, se pueden combinar dichas secuencias de dominio variable con un dominio constante humano deseado. Las técnicas para seleccionar anticuerpos humanos de colecciones de anticuerpos se describen a continuación.

5. Anticuerpos derivados de colecciones

Se pueden aislar los anticuerpos de la invención cribando colecciones combinatorias para determinar los anticuerpos con la actividad o actividades deseada(s). Por ejemplo, es conocida en la técnica una variedad de procedimientos para generar colecciones de presentación en fagos y cribar dichas colecciones para determinar los anticuerpos que posean las características de unión deseadas. Dichos procedimientos se revisan, por ejemplo, en Hoogenboom *et al.* en *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien *et al.*, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001) y se describen además, por ejemplo, en McCafferty *et al.*, *Nature* 348:552-554; Clackson *et al.*, *Nature* 352: 624-628 (1991); Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.* 222: 581-597 (1992); Marks y Bradbury, en *Methods in Molecular Biology* 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu *et al.*, *J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310 (2004); Lee *et al.*, *J. Mol. Biol.* 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34): 12467-12472 (2004); y Lee *et al.*, *J. Immunol. Methods* 284(1-2): 119-132 (2004).

En determinados procedimientos de presentación en fagos, los repertorios de genes de VH y VL se clonan por separado mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y se recombinan aleatoriamente en colecciones de fagos, que, a continuación, se pueden cribar para determinar el fago de unión a antígeno como se describe en Winter *et al.*, *Ann. Rev. Immunol.*, 12: 433-455 (1994). Los fagos presentan típicamente fragmentos de anticuerpo, como fragmentos Fv monocatenarios (scFv) o bien como fragmentos Fab. Las colecciones de fuentes inmunizadas proporcionan anticuerpos de afinidad alta con respecto al inmunógeno sin el requerimiento de construir hibridomas. De forma alternativa, se puede clonar el repertorio sin exposición previa (por ejemplo, de un ser humano) para proporcionar una única fuente de anticuerpos para una amplia gama de antígenos no propios y también propios sin ninguna inmunización como se describe por Griffiths *et al.*, *EMBO J.*, 12: 725-734 (1993). Finalmente, también se pueden preparar de forma sintética colecciones sin exposición previa clonando segmentos génicos V no reordenados a partir de células madre y usando cebadores de PCR que contienen secuencias aleatorias para codificar las regiones CDR3 altamente variables y conseguir el reordenamiento *in vitro*, como se describe por Hoogenboom y Winter, *J. Mol. Biol.*, 227: 381-388 (1992). Las publicaciones de patente que describen colecciones de fagos de anticuerpos humanos incluyen, por ejemplo: la patente de EE. UU. n.º 5.750.373 y las publicaciones de patente de EE. UU. n.ºs 2005/0079574, 2005/0119455, 2005/0266000, 2007/0117126, 2007/0160598, 2007/0237764, 2007/0292936 y 2009/0002360.

Los anticuerpos o fragmentos de anticuerpo aislados de colecciones de anticuerpos humanos se consideran anticuerpos humanos o fragmentos de anticuerpo humano en el presente documento.

6. Anticuerpos multiespecíficos

En determinados modos de realización, un anticuerpo proporcionado en el presente documento es un anticuerpo multiespecífico, por ejemplo, un anticuerpo biespecífico. Los anticuerpos multiespecíficos son anticuerpos monoclonales que tienen especificidades de unión por al menos dos sitios diferentes. En determinados modos de realización, una de las especificidades de unión es por CD79b y la otra es por cualquier otro antígeno. En determinados modos de realización, los anticuerpos biespecíficos se pueden unir a dos epítomos diferentes de CD79b. También se pueden usar anticuerpos biespecíficos para localizar agentes citotóxicos con respecto a las células que expresan CD79b. Se pueden preparar anticuerpos biespecíficos como anticuerpos de longitud completa o fragmentos de anticuerpo.

En un aspecto, la invención proporciona anticuerpos anti-CD79b aislados que se unen a CD79b y CD3 (es decir, que comprenden un dominio de unión a CD79b y un dominio de unión a CD3). En determinados modos de realización, una de las especificidades de unión es por CD3 (por ejemplo, CD3ε o CD3γ) y la otra es CD79b. En algunos modos de realización, el dominio de unión a CD3 se une a un polipéptido CD3 humano o a un polipéptido CD3 de macaco cangrejero (*cyno*). En algunos modos de realización, el polipéptido CD3 humano o el polipéptido CD3 de *cyno* es un polipéptido CD3s humano o un polipéptido CD3ε de *cyno*, respectivamente. En algunos modos de realización, el polipéptido CD3 humano o el polipéptido CD3 de *cyno* es un polipéptido CD3γ humano o un polipéptido CD3γ de *cyno*, respectivamente. En determinados modos de realización, se proporciona un anticuerpo anti-CD79b que comprende un dominio de unión a CD3 que se une a un epítomo en un fragmento de CD3 (por ejemplo, CD3ε humano) que consiste en los aminoácidos 1-26 o 1-27 de CD3ε humano. En algunos modos de realización, el anticuerpo anti-CD79b es un anticuerpo biespecífico. En algunos modos de realización, el anticuerpo anti-CD79b es un anticuerpo IgG biespecífico.

En algunos modos de realización, el dominio de unión a CD3 se une al polipéptido CD3ε humano con una Kd de 250 nM o más baja. En algunos aspectos de la divulgación, el dominio de unión a CD3 se une al polipéptido CD3ε humano con una Kd de 100 nM o más baja. En algunos aspectos de la divulgación, el dominio de unión a CD3 se une al polipéptido CD3ε humano con una Kd de 15 nM o más baja. En algunos aspectos de la divulgación, el dominio de unión a CD3 se une al polipéptido CD3ε humano con una Kd de 10 nM o más baja. En algunos aspectos de la divulgación, el dominio de unión a CD3 se une al polipéptido CD3ε humano con una Kd de 5 nM o más baja.

En algunos modos de realización de cualquiera de los anticuerpos multiespecíficos, por ejemplo, un anticuerpo biespecífico, que se unen a CD79b y CD3, comprende un dominio de unión a CD3, en el que el dominio de unión a

CD3 comprende las regiones hipervariables (HVR) (a) HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:39; (b) HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:40; (c) HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:41; (d) HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:42; (e) HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:43; y (f) HVR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44. En algunos modos de realización, el dominio de unión a CD3 comprende (a) un dominio VH que comprende (i) HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:39, (ii) HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:40, y (iii) HVR-H3, que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO:41; y (b) un dominio VL que comprende (i) HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:42, (ii) HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:43, y (iii) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44. En algunos casos, el dominio de unión a CD3 puede tener un dominio variable de la cadena pesada (VH) que incluya una secuencia de aminoácidos que tenga al menos un 90 % de identidad de secuencia (por ejemplo, al menos un 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia) con respecto a, o la secuencia de, la SEQ ID NO:57 y/o un dominio variable de la cadena ligera (VL) que comprenda una secuencia de aminoácidos que tenga al menos un 90 % de identidad de secuencia (por ejemplo, al menos un 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia) con respecto a, o la secuencia de, la SEQ ID NO:58. En algunos casos, el dominio de unión a CD3 puede tener un dominio VH que comprenda la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:57 y un dominio VL que comprenda la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:58. En un caso particular, el dominio de unión a CD3 puede ser 40G5c, o un derivado o pariente clonado del mismo.

Por ejemplo, en algunos modos de realización, el anticuerpo anti-CD79b comprende (i) un dominio de unión a CD79b que comprende las HVR (a) HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4; (b) HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7; (c) HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9; (d) HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10; (e) HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11; y (f) HVR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12 y (ii) un dominio de unión a CD3 que comprende las HVR (a) HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:39; (b) HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:40; (c) HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:41; (d) HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:42; (e) HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:43; y (f) HVR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44. En algunos modos de realización, el anticuerpo anti-CD79b comprende (i) un dominio de unión a CD79b que comprende (a) un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19 y (b) un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:20 y (ii) un dominio de unión a CD3 que comprende (a) un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:57 y (b) un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:58.

En algunos modos de realización de cualquiera de los anticuerpos multiespecíficos, por ejemplo, un anticuerpo biespecífico, que se unen a CD79b y CD3, el dominio de unión a CD3 comprende (a) HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:45; (b) HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46; (c) HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47; (d) HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48; (e) HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49; y (f) HVR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50. En algunos modos de realización, el dominio de unión a CD3 comprende (a) un dominio VH que comprende (i) HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:45, (ii) HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46, y (iii) HVR-H3, que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO:47; y (b) un dominio VL que comprende (i) HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48, (ii) HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49, y (iii) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50. En algunos casos, el dominio de unión a CD3 puede tener un dominio VH que comprenda una secuencia de aminoácidos que tenga al menos un 90 % de identidad de secuencia (por ejemplo, al menos un 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia) con respecto a, o la secuencia de, la SEQ ID NO:59 y/o un dominio VL que comprenda una secuencia de aminoácidos que tenga al menos un 90 % de identidad de secuencia (por ejemplo, al menos un 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia) con respecto a, o la secuencia de, la SEQ ID NO:60. En algunos casos, el dominio de unión a CD3 puede tener un dominio VH que comprenda la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:59 y un dominio VL que comprenda la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:60. En un caso particular, el dominio de unión a CD3 puede ser 38E4v1, o un derivado o pariente clonado del mismo.

Por ejemplo, en algunos modos de realización, el anticuerpo anti-CD79b comprende (i) un dominio de unión a CD79b que comprende las HVR (a) HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4; (b) HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7; (c) HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9; (d) HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10; (e) HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11; y (f) HVR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12 y (ii) un dominio de unión a CD3 que comprende las HVR (a) HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:45; (b) HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46; (c) HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47; (d) HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48; (e) HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ

ID NO:49; y (f) HVR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50. En algunos modos de realización, el anticuerpo anti-CD79b comprende (i) un dominio de unión a CD79b que comprende (a) un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19 y (b) un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:20 y (ii) un dominio de unión a CD3 que comprende (a) un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:59 y (b) un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:60.

En algunos modos de realización de cualquiera de los anticuerpos multiespecíficos, por ejemplo, un anticuerpo biespecífico, que se unen a CD79b y CD3, el dominio de unión a CD3 comprende (a) HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51; (b) HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52; (c) HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53; (d) HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; (e) HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:55; y (f) HVR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:56. En algunos modos de realización, el dominio de unión a CD3 comprende (a) un dominio VH que comprende (i) HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID No:51, (ii) HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, y (iii) HVR-H3, que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO:53; y (b) un dominio VL que comprende (i) HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54, (ii) HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:55, y (iii) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:56. En algunos casos, el anticuerpo anti-CD3 puede tener un dominio VH que comprenda una secuencia de aminoácidos que tenga al menos un 90 % de identidad de secuencia (por ejemplo, al menos un 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia) con respecto a, o la secuencia de, la SEQ ID NO:61 y/o un dominio VL que comprenda una secuencia de aminoácidos que tenga al menos un 90 % de identidad de secuencia (por ejemplo, al menos un 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia) con respecto a, o la secuencia de, la SEQ ID NO:62. En algunos casos, el dominio de unión a CD3 puede tener un dominio VH que comprenda la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61 y un dominio VL que comprenda la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:62. En un caso particular, el anticuerpo anti-CD3 puede ser UCHT1.v9, o un derivado o pariente clonado del mismo.

Por ejemplo, en algunos modos de realización, el anticuerpo anti-CD79b comprende (i) un dominio de unión a CD79b que comprende las HVR (a) HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4; (b) HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7; (c) HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9; (d) HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10; (e) HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11; y (f) HVR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12 y (ii) un dominio de unión a CD3 que comprende las HVR (a) HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51; (b) HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52; (c) HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53; (d) HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; (e) HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:55; y (f) HVR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:56. En algunos modos de realización, el anticuerpo anti-CD79b comprende (i) un dominio de unión a CD79b que comprende (a) un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:19 y (b) un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:20 y (ii) un dominio de unión a CD3 que comprende (a) un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61 y (b) un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:62.

En algunos aspectos de la divulgación de cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b multiespecíficos, el anticuerpo anti-CD79b tiene una CE_{50} para la destrucción de linfocitos B de menos de aproximadamente 100 ng/ml. En algunos aspectos de la divulgación, la CE_{50} es de menos de aproximadamente 50 ng/ml. En algunos aspectos de la divulgación, la CE_{50} es de menos de aproximadamente 25 ng/ml. En algunos aspectos de la divulgación, la CE_{50} es de menos de aproximadamente 20 ng/ml. En algunos aspectos de la divulgación, la CE_{50} es de menos de aproximadamente 15 ng/ml. En algunos aspectos de la divulgación, la destrucción de linfocitos B es la destrucción de linfocitos B endógenos. En algunos aspectos de la divulgación, la destrucción de linfocitos B es la destrucción de linfocitos B en líneas de células, por ejemplo, la línea de células BJAB, la línea de células WSU-CLCL2, la línea de células OCI-Ly-19. En algunos aspectos de la divulgación, se determina la CE_{50} mediante cualquier procedimiento descrito en el presente documento, en particular, los ejemplos. En algunos aspectos de la divulgación, la CE_{50} es el promedio de aproximadamente cualquiera de 5 o 10 experimentos. En algunos aspectos de la divulgación, la CE_{50} es el promedio de aproximadamente cualquiera de 5 o 10 donantes.

En algunos aspectos de la divulgación de cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b multiespecíficos, el anticuerpo anti-CD79b destruye al menos aproximadamente un 60 % de los linfocitos B a 5000 ng/ml. En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo anti-CD79b destruye al menos aproximadamente un 80 % de los linfocitos B a 5000 ng/ml. El anticuerpo anti-CD79b destruye al menos aproximadamente un 90 % de los linfocitos B a 5000 ng/ml. Por ejemplo, en algunos aspectos de la divulgación, los linfocitos B son una o más de las líneas de linfocitos B SU-CHL-6, CoHH2, BJAB, WSU-DLCL2, Sc-1, SU-CHL-8, GRANTA-519, Nalm-6, Ramos, y/u OCI-Ly-19. En algunos aspectos de la divulgación, se determina la CE_{50} mediante cualquier procedimiento descrito en el presente documento, en particular, los ejemplos. En algunos aspectos de la divulgación, la CE_{50} es el promedio de aproximadamente cualquiera de 5 o 10 experimentos. En algunos aspectos de la divulgación, la CE_{50} es el promedio de aproximadamente cualquiera de

5 o 10 donantes.

En algunos aspectos de la divulgación de cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b multiespecíficos, el anticuerpo anti-CD79b tiene una CE₅₀ para la activación de linfocitos T citotóxicos que es de menos de aproximadamente cualquiera de 50 ng/ml. En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo anti-CD79b tiene una CE₅₀ para la activación de linfocitos T citotóxicos que es de menos de aproximadamente 25 ng/ml. En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo anti-CD79b tiene una CE₅₀ para la activación de linfocitos T citotóxicos que es de menos de aproximadamente menos de 20 ng/ml. En algunos aspectos de la divulgación, la activación de linfocitos T citotóxicos se mide mediante el % de linfocitos T CD69+CD25+ en los linfocitos T CD8+. En algunos aspectos de la divulgación, se determina la CE₅₀ mediante cualquier procedimiento descrito en el presente documento, en particular, los ejemplos. En algunos aspectos de la divulgación, la CE₅₀ es el promedio de aproximadamente cualquiera de 5 o 10 experimentos. En algunos aspectos de la divulgación, la CE₅₀ es el promedio de aproximadamente cualquiera de 5 o 10 donantes.

Las técnicas para preparar anticuerpos multiespecíficos incluyen, pero no se limitan a, la coexpresión recombinante de dos pares de cadena pesada-cadena ligera de inmunoglobulina que tengan especificidades diferentes (véanse Milstein y Cuello, *Nature* 305: 537 (1983)), el documento WO 93/08829, y Traunecker *et al.*, *EMBO J.* 10: 3655 (1991)) y la genomanipulación por "botón en ojal" (véase, por ejemplo, la patente de EE. UU. n.º 5.731.168). También se pueden preparar anticuerpos multiespecíficos genomanipulando los efectos de conducción electrostática para preparar moléculas heterodímeras de Fc de anticuerpo (documento WO 2009/089004A1); reticulando dos o más anticuerpos o fragmentos (véanse, por ejemplo, la patente de EE. UU. n.º 4.676.980 y Brennan *et al.*, *Science*, 229: 81 (1985)); usando cremalleras de leucinas para producir anticuerpos biespecíficos (véase, por ejemplo, Kostelny *et al.*, *J. Immunol.*, 148(5): 1547-1553 (1992)); usando la tecnología de "diacuerpos" para preparar fragmentos de anticuerpo biespecífico (véase, por ejemplo, Hollinger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:6444-6448 (1993)); y usando dímeros de Fv monocatenarios (sFv) (véase, por ejemplo, Gruber *et al.*, *J. Immunol.*, 152:5368 (1994)); y preparando anticuerpos trispecíficos como se describe, por ejemplo, en Tutt *et al. J. Immunol.* 147: 60 (1991).

En el presente documento también se incluyen anticuerpos genomanipulados con tres o más sitios de unión a antígeno funcionales, incluyendo los "anticuerpos pulpo" (véase, por ejemplo, el documento US 2006/0025576A1).

El anticuerpo o fragmento en el presente documento también incluye un "Fab de doble acción" o "DAF" que comprende un sitio de unión a antígeno que se une a CD79b, así como otro antígeno diferente (véase el documento US 2008/0069820, por ejemplo).

7. Variantes de anticuerpo

En determinados aspectos de la divulgación, se contemplan variantes de secuencia de aminoácidos de los anticuerpos proporcionados en el presente documento. Por ejemplo, puede ser deseable mejorar la afinidad de unión y/u otras propiedades biológicas del anticuerpo. Las variantes de secuencia de aminoácidos de un anticuerpo se pueden preparar introduciendo modificaciones apropiadas en la secuencia de nucleótidos que codifica el anticuerpo o mediante síntesis peptídica. Dichas modificaciones incluyen, por ejemplo, deleciones de y/o inserciones en y/o sustituciones de residuos en las secuencias de aminoácidos del anticuerpo. Se puede realizar cualquier combinación de deleción, inserción y sustitución para llegar a la construcción final, siempre que la construcción final posea las características deseadas, por ejemplo, unión a antígeno.

a) Variantes de sustitución, inserción y deleción

En determinados aspectos de la divulgación, se proporcionan variantes de anticuerpo que tienen una o más sustituciones de aminoácidos. Los sitios de interés para la mutagénesis de sustitución incluyen las HVR y las FR. Se muestran sustituciones conservadoras en la tabla 1 bajo el encabezado "sustituciones preferentes". Se proporcionan cambios más sustanciales en la tabla 1 bajo el encabezado "sustituciones ejemplares" y como se describe además a continuación en referencia a las clases de cadenas laterales de los aminoácidos. Se pueden introducir sustituciones de aminoácidos en un anticuerpo de interés y cribar los productos para determinar una actividad deseada, por ejemplo, unión a antígeno retenida/mejorada, inmunogenia disminuida, o ADCC o CDC mejorada.

TABLA 1

Residuo original	Sustituciones ejemplares	Sustituciones preferentes
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

Residuo original	Sustituciones ejemplares	Sustituciones preferentes
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; norleucina	Leu
Leu (L)	Norleucina; 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
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; norleucina	Leu

Los aminoácidos se pueden agrupar de acuerdo con propiedades de cadena lateral comunes:

- (1) hidrófobos: norleucina, Met, Ala, Val, Leu, Ile;
- (2) hidrófilos neutros: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;
- (3) ácidos: Asp, Glu;
- (4) básicos: His, Lys, Arg;
- (5) residuos que influyen en la orientación de la cadena: Gly, Pro;
- (6) aromáticos: Trp, Tyr, Phe.

Las sustituciones no conservadoras supondrán intercambiar un miembro de una de estas clases por otra clase.

Un tipo de variante de sustitución implica sustituir uno o más residuos de la región hipervariable de un anticuerpo original (por ejemplo, un anticuerpo humanizado o humano). En general, la(s) variante(s) resultante(s) seleccionada(s) para su estudio adicional tendrán modificaciones (por ejemplo, mejoras) en determinadas propiedades biológicas (por ejemplo, afinidad incrementada, inmunogenia reducida) en relación con el anticuerpo original y/o habrán retenido sustancialmente determinadas propiedades biológicas del anticuerpo original. Una variante de sustitución ejemplar es un anticuerpo madurado en afinidad, que se puede generar convenientemente, por ejemplo, usando técnicas de maduración de la afinidad basadas en presentación en fagos, tales como las descritas en el presente documento. En resumen, se mutan uno o más residuos de HVR y los anticuerpos variantes se presentan en fagos y se criban para determinar una actividad biológica particular (por ejemplo, la afinidad de unión).

Se pueden realizar alteraciones (por ejemplo, sustituciones) en las HVR, por ejemplo, para mejorar la afinidad del anticuerpo. Se pueden realizar dichas alteraciones en "puntos calientes" de la HVR, es decir, residuos codificados por codones que se someten a una mutación con frecuencia alta durante el proceso de maduración somática (véase, por ejemplo, Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)); y/o residuos que están en contacto con el antígeno, sometiendo a prueba el VH o VL variante resultante para determinar su afinidad de unión. La maduración de la afinidad mediante construcción y reselección de colecciones secundarias se ha descrito, por ejemplo, en Hoogenboom *et al.* en *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien *et al.*, ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001)). En algunos aspectos de la divulgación de la maduración de la afinidad, se introduce diversidad en los genes variables elegidos para la maduración mediante cualquiera de una variedad de procedimientos (por ejemplo, PCR propensa a error, barajado de cadenas o mutagénesis dirigida por oligonucleótidos). A continuación, se crea una segunda colección. A continuación, se criba la colección para identificar cualquier variante de anticuerpo con la afinidad deseada. Otro procedimiento para introducir diversidad implica enfoques dirigidos a HVR, en los que se aleatorizan varios residuos de HVR (por ejemplo, 4-6 residuos a la vez). Se pueden identificar específicamente los residuos de HVR implicados en la unión a antígeno, por ejemplo, usando modelado o mutagénesis por barrido de alanina. A menudo CDR-H3 y CDR-L3 se seleccionan como diana en particular.

En determinados aspectos de la divulgación, se pueden producir sustituciones, inserciones o deleciones en una o más HVR, siempre que dichas alteraciones no reduzcan sustancialmente la capacidad del anticuerpo para unirse al antígeno. Por ejemplo, se pueden realizar alteraciones conservadoras (por ejemplo, sustituciones conservadoras como se proporciona en el presente documento) que no reduzcan sustancialmente la afinidad de unión en las HVR. Dichas alteraciones, por ejemplo, pueden estar fuera de los residuos en contacto con el antígeno en las HVR. En determinados aspectos de la divulgación de las secuencias de VH y VL variantes proporcionadas anteriormente, cada HVR está inalterada o bien no contiene más de una, dos o tres sustituciones de aminoácidos.

Un procedimiento útil para la identificación de residuos o regiones de un anticuerpo que se pueden seleccionar como diana para la mutagénesis se llama "mutagénesis por barrido de alanina" como se describe por Cunningham y Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085. En este procedimiento, se identifican un residuo o grupo de residuos diana (por ejemplo, residuos cargados, tales como Arg, Asp, His, Lys y Glu) y se remplazan por un aminoácido neutro o cargado negativamente (por ejemplo, alanina o polialanina) para determinar si la interacción del anticuerpo con el antígeno se ve afectada. Se pueden introducir otras sustituciones en las localizaciones de aminoácidos que demuestren sensibilidad funcional a las sustituciones iniciales. De forma alternativa, o adicionalmente, una estructura cristalina de un complejo antígeno-anticuerpo para identificar los puntos de contacto entre el anticuerpo y el antígeno. Dichos residuos de contacto y residuos adyacentes se pueden seleccionar como diana o eliminar como candidatos para la sustitución. Se pueden cribar las variantes para determinar si contienen las propiedades deseadas.

Las inserciones en la secuencia de aminoácidos incluyen fusiones amino y/o carboxiterminales que varían en longitud desde un residuo a polipéptidos que contienen cien o más residuos, así como inserciones intrasecuenciales de residuos de aminoácido únicos o múltiples. Los ejemplos de inserciones terminales incluyen un anticuerpo con un residuo de metionilo N terminal. Otras variantes de inserción de la molécula de anticuerpo incluyen la fusión al extremo N o C del anticuerpo a una enzima (por ejemplo, para ADEPT) o un polipéptido que incrementa la semivida en suero del anticuerpo.

b) Variantes de glucosilación

En determinados modos de realización, se altera un anticuerpo proporcionado en el presente documento para incrementar o disminuir el grado en el que el anticuerpo se glucosila. La adición o deleción de sitios de glucosilación a un anticuerpo se puede conseguir convenientemente alterando la secuencia de aminoácidos de tal manera que se cree o retire uno o más sitios de glucosilación.

Si el anticuerpo comprende una región Fc, se puede alterar el carbohidrato fijado a la misma. Los anticuerpos naturales producidos por células de mamífero comprenden típicamente un oligosacárido biantenarico ramificado que se fija, en general, mediante un enlace N a Asn297 del dominio CH2 de la región Fc. Véase, por ejemplo, Wright *et al.* *TIBTECH* 15:26-32 (1997). El oligosacárido puede incluir diversos carbohidratos, por ejemplo, manosa, N-acetilglucosamina (GlcNAc), galactosa y ácido siálico, así como una fucosa fijada a una GlcNAc en el "tallo" de la estructura de oligosacárido biantenarico. En algunos modos de realización, se pueden realizar modificaciones del oligosacárido en un anticuerpo de la invención para crear variantes de anticuerpo con determinadas propiedades mejoradas.

En un modo de realización, se proporcionan variantes de anticuerpo que tienen una estructura de carbohidrato que carece de fucosa fijada (directa o indirectamente) a una región Fc. Por ejemplo, la cantidad de fucosa en dicho anticuerpo puede ser de un 1 % a un 80 %, de un 1 % a un 65 %, de un 5 % a un 65 % o de un 20 % a un 40 %. La cantidad de fucosa se determina calculando la cantidad promedio de fucosa en la cadena glucídica en Asn297, en relación con la suma de todas las glucoestructuras fijadas a Asn297 (por ejemplo, estructuras complejas, híbridas y de alto contenido en manosa) como se mide mediante espectrometría de masas MALDI-TOF, como se describe, por ejemplo, en el documento WO 2008/077546. Asn297 se refiere al residuo de asparagina localizado en aproximadamente la posición 297 en la región Fc (numeración Eu de los residuos de la región Fc); sin embargo, Asn297 también se puede localizar aproximadamente ± 3 aminoácidos en dirección 5' o en dirección 3' de la posición 297, es decir, entre las posiciones 294 y 300, debido a variaciones de secuencia insignificantes en los anticuerpos. Dichas variantes de fucosilación pueden tener una función ADCC mejorada. Véanse, por ejemplo, las publicaciones de patente de EE. UU. n.ºs US 2003/0157108 (Presta, L.); US 2004/0093621 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd). Los ejemplos de publicaciones relacionadas con variantes de anticuerpo "desfucosilado" o "carente de fucosa" incluyen: los documentos 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 *et al.* *J. Mol. Biol.* 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki *et al.* *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004). Los ejemplos de líneas de células que pueden producir anticuerpos desfucosilados incluyen células Lec13 CHO carentes de fucosilación de proteínas (Ripka *et al.* *Arch. Biochem. Biophys.* 249:533-545 (1986); la solicitud de pat. de EE. UU. n.º US 2003/0157108 A1, Presta, L.; y el documento WO 2004/056312 A1, Adams *et al.*, especialmente en el ejemplo 11) y líneas de células con genes inactivados, tales como el gen alfa-1,6-fucosiltransferasa, *FUT8*, células CHO con genes inactivados (véanse, por ejemplo, Yamane-Ohnuki *et al.* *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004); Kanda, Y. *et al.*, *Biotechnol. Bioeng.*, 94(4):680-688 (2006); y el documento WO2003/085107).

Se proporcionan además variantes de anticuerpos con oligosacáridos bisecados, por ejemplo, en las que un oligosacárido biantenarico fijado a la región Fc del anticuerpo se biseca mediante GlcNAc. Dichas variantes de anticuerpo pueden tener una fucosilación reducida y/o función ADCC mejorada. Los ejemplos de dichas variantes de anticuerpo se describen, por ejemplo, en el documento WO 2003/011878 (Jean-Mairet *et al.*); la patente de EE. UU. n.º 6.602.684 (Umana *et al.*); y el documento US 2005/0123546 (Umana *et al.*). También se proporcionan variantes de anticuerpo con al menos un residuo de galactosa en el oligosacárido fijado a la región Fc. Dichas variantes de anticuerpo pueden tener una función CDC mejorada. Dichas variantes de anticuerpo se describen, por ejemplo, en el documento WO 1997/30087 (Patel *et al.*); el documento WO 1998/58964 (Raju, S.); y el documento WO 1999/22764 (Raju, S.).

c) Variantes de la región Fc

En determinados modos de realización, se pueden introducir una o más modificaciones de aminoácidos en la región Fc de un anticuerpo proporcionado en el presente documento, generando de este modo una variante de la región Fc. La variante de la región Fc puede comprender una secuencia de la región Fc humana (por ejemplo, una región Fc de IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4 humana) que comprenda una modificación de aminoácidos (por ejemplo, una sustitución) en una o más posiciones de aminoácido.

En determinados modos de realización, la invención contempla una variante de anticuerpo que posee algunas, pero no todas, las funciones efectoras, que le convierten en un candidato deseable para aplicaciones en las que la semivida del anticuerpo *in vivo* sea importante, aunque determinadas funciones efectoras (tales como el complemento y ADCC) sean innecesarias o perjudiciales. Se pueden llevar a cabo ensayos de citotoxicidad *in vitro* y/o *in vivo* para confirmar la reducción/disminución de las actividades CDC y/o ADCC. Por ejemplo, se pueden llevar a cabo ensayos de unión al receptor Fc (FcR) para garantizar que el anticuerpo carezca de unión a FcγR (de ahí que sea probable que carezca de actividad ADCC), pero retenga su capacidad de unión a FcRn. Las células primarias para mediar en la ADCC, los linfocitos NK, solo expresan Fc(RIII), mientras que los monocitos expresan Fc(RI, Fc(RII y Fc(RIII). La expresión de FcR en células hematopoyéticas se resume en la tabla 3 en la página 464 de Ravetch y Kinet, *Annu. Rev. Immunol* 9:457-492 (1991). Se describen ejemplos no limitantes de ensayos *in vitro* para evaluar la actividad ADCC de una molécula de interés en la patente de EE. UU. n.º 5.500.362; (véase, por ejemplo, Hellstrom, I. *et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 83:7059-7063 (1986)) y Hellstrom, I *et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 82:1499-1502 (1985); 5,821,337 (véase Bruggemann, M. *et al., J. Exp. Med.* 166:1351-1361 (1987)). De forma alternativa, se pueden emplear procedimientos de ensayos no radioactivos (véase, por ejemplo, el ensayo de citotoxicidad no radioactivo ACT1™ para citometría de flujo (CellTechnology, Inc. Mountain View, CA); y el ensayo de citotoxicidad no radioactivo CytoTox 96® (Promega, Madison, WI)). Las células efectoras útiles para dichos ensayos incluyen células mononucleares de sangre periférica (PBMC) y linfocitos citolíticos naturales (NK). De forma alternativa, o adicionalmente, se puede evaluar *in vivo* la actividad ADCC de la molécula de interés, por ejemplo, en un modelo animal tal como el divulgado en Clynes *et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95:652-656 (1998). También se pueden llevar a cabo ensayos de unión a C1q para confirmar que el anticuerpo no se puede unir a C1q y, de ahí que carezca de actividad CDC. Véase, por ejemplo, ELISA de unión a C1q y C3c en los documentos WO 2006/029879 y WO 2005/100402. Para evaluar la activación del complemento, se puede realizar un ensayo de CDC (véanse, por ejemplo, Gazzano-Santoro *et al., J. Immunol. Methods* 202:163 (1996); Cragg, M.S. *et al., Blood* 101:1045-1052 (2003); y Cragg, M.S. y M.J. Glennie, *Blood* 103:2738-2743 (2004)). También se pueden realizar la unión a FcRn y las determinaciones del aclaramiento/semivida *in vivo* usando procedimientos conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Petkova, S.B. *et al., Int'l. Immunol.* 18(12): 1759-1769 (2006)).

Los anticuerpos con función efectora reducida incluyen aquellos con sustitución de uno o más de los residuos de la región Fc 238, 265, 269, 270, 297, 327 y 329 (patente de EE. UU. n.º 6.737.056). Dichos mutantes con respecto a Fc incluyen mutantes con respecto a Fc con sustituciones en dos o más de las posiciones de aminoácido 265, 269, 270, 297 y 327, incluyendo el llamado mutante con respecto a Fc "DANA" con sustitución de los residuos 265 y 297 con alanina (patente de EE. UU. n.º 7.332.581).

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD79b (por ejemplo, el anticuerpo TDB anti-CD79b) comprende una región Fc que comprende una mutación N297G.

En algunos modos de realización, el anticuerpo anti-CD79b que comprende la mutación N297G comprende uno o más dominios constantes de la cadena pesada, en el que el uno o más dominios constantes de la cadena pesada se seleccionan de un primer dominio CH1 (CH1₁), un primer dominio CH2 (CH2₁), un primer dominio CH3 (CH3₁), un segundo dominio CH1 (CH1₂), un segundo dominio CH2 (CH2₂) y un segundo dominio CH3 (CH3₂). En algunos casos, al menos uno de los uno o más dominios constantes de la cadena pesada está apareado con otro dominio constante de la cadena pesada. En algunos casos, los dominios CH3₁ y CH3₂ comprenden cada uno una protuberancia o cavidad, y en los que la protuberancia o cavidad en el dominio CH3₁ se puede posicionar en la cavidad o protuberancia, respectivamente, en el dominio CH3₂. En algunos casos, los dominios CH3₁ y CH3₂ se encuentran en una interfase entre dichas protuberancia y cavidad. En algunos casos, los dominios CH2₁ y CH2₂ comprenden cada uno una protuberancia o cavidad, y en los que la protuberancia o cavidad en el dominio CH2₁ se puede posicionar en la cavidad o protuberancia, respectivamente, en el dominio CH2₂. En otros casos, los dominios CH2₁ y CH2₂ se encuentran en una interfase entre dichas protuberancia y cavidad. En algunos casos, el anticuerpo anti-CD3 es un anticuerpo IgG1.

Se describen determinadas variantes de anticuerpo con unión mejorada o reducida a los FcR. (Véanse, por ejemplo, la patente de EE. UU. n.º 6.737.056; el documento WO 2004/056312 y Shields *et al.*, *J. Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604 (2001)).

5 En determinados modos de realización, una variante de anticuerpo comprende una región Fc con una o más sustituciones de aminoácidos que mejoran la ADCC, por ejemplo, sustituciones en las posiciones 298, 333 y/o 334 de la región Fc (numeración EU de los residuos).

10 En algunos modos de realización, se realizan las alteraciones en la región Fc, que dan como resultado una unión a C1q y/o una citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) alteradas (es decir, mejoradas o reducidas), por ejemplo, como se describe en la patente de EE. UU. n.º 6.194.551, el documento WO 99/51642 e Idusogie *et al.* *J. Immunol.* 164: 4178-4184 (2000).

15 En el documento US 2005/0014934A1 (Hinton *et al.*) se describen anticuerpos con semividas incrementadas y unión mejorada al receptor Fc neonatal (FcRn), que es responsable de la transferencia de las IgG maternas al feto (Guyer *et al.*, *J. Immunol.* 117:587 (1976) y Kim *et al.*, *J. Immunol.* 24:249 (1994)). Estos anticuerpos comprenden una región Fc con una o más sustituciones en la misma que mejoran la unión de la región Fc al FcRn. Dichas variantes de Fc incluyen aquellas con sustituciones en uno o más de los residuos de la región Fc: 238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 20 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424 o 434, por ejemplo, la sustitución del residuo de la región Fc 434 (patente de EE. UU. n.º 7.371.826). Véanse también Duncan y Winter, *Nature* 322:738-40 (1988); la patente de EE. UU. n.º 5.648.260; la patente de EE. UU. n.º 5.624.821; y el documento WO 94/29351 con respecto a otros ejemplos de variantes de la región Fc.

25 **d) Variantes de anticuerpo genomanipulado con cisteína**

En determinados aspectos de la divulgación, puede ser deseable crear anticuerpos genomanipulados con cisteína, por ejemplo, "thioMAb", en los que uno o más residuos de un anticuerpo se sustituyen con residuos de cisteína. En 30 aspectos particulares de la divulgación, los residuos sustituidos se producen en sitios accesibles del anticuerpo. Sustituyendo esos residuos con cisteína, los grupos tiol reactivos se posicionan de este modo en sitios accesibles del anticuerpo y se pueden usar para conjugar el anticuerpo con otros restos, tales como restos de fármaco o restos de conector-fármaco, para crear un inmunoconjugado, como se describe además en el presente documento. En determinados aspectos de la divulgación, se puede sustituir uno cualquiera o más de los siguientes residuos con cisteína: V205 (numeración de Kabat) de la cadena ligera; A118 (numeración EU) de la cadena pesada; y S400 35 (numeración EU) de la región Fc de la cadena pesada. Se pueden generar anticuerpos genomanipulados con cisteína como se describe, por ejemplo, en la patente de EE. UU. n.º 7.521.541.

e) Derivados de anticuerpo

40 En determinados aspectos de la divulgación, se puede modificar además un anticuerpo proporcionado en el presente documento para que contenga restos no proteicos adicionales que son conocidos en la técnica y están fácilmente disponibles. Los restos adecuados para la derivatización del anticuerpo incluyen, pero no se limitan a, polímeros solubles en agua. Los ejemplos no limitantes de polímeros solubles en agua incluyen, pero no se limitan a, polietilenglicol (PEG), copolímeros de etilenglicol/propilenglicol, carboximetilcelulosa, dextrano, poli(alcohol vinílico), 45 polivinilpirrolidona, poli-1,3-dioxolano, poli-1,3,6-trioxano, copolímero de etileno/anhídrido maleico, poliaminoácidos (homopolímeros o bien copolímeros aleatorios) y dextrano o poli(n-vinilpirrolidona)/polietilenglicol, homopolímeros de propilenglicol, copolímeros de poli(óxido de propileno)/óxido de etileno, polioles polioxietilados (por ejemplo, glicerol), poli(alcohol vinílico) y mezclas de los mismos. El polietilenglicol-propionaldehído puede tener ventajas en la fabricación debido a su estabilidad en agua. El polímero puede ser de cualquier peso molecular y puede estar ramificado o no ramificado. El número de polímeros fijados al anticuerpo puede variar, y si se fija más de un polímero, 50 pueden ser las mismas moléculas o diferentes. En general, se puede determinar el número y/o tipo de polímeros usados para la derivatización en base a consideraciones, que incluyen, pero sin limitarse a, las propiedades o funciones particulares del anticuerpo que se van a mejorar, independientemente de si el derivado de anticuerpo se usará en un tratamiento en condiciones definidas, etc.

55 En otro aspecto de la divulgación, se proporcionan conjugados de un anticuerpo y un resto no proteico que se pueden calentar de forma selectiva mediante exposición a la radiación. En un aspecto de la divulgación, el resto no proteico es un nanotubo de carbono (Kam *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 11600-11605 (2005)). La radiación puede ser de cualquier longitud de onda e incluye, pero no se limita a, las longitudes de onda que no dañan a las células normales, pero que calientan el resto no proteico a una temperatura en la que se destruyen las células proximales al anticuerpo-resto no proteico.

B. Procedimientos y composiciones recombinantes

65 Se pueden producir anticuerpos usando procedimientos y composiciones recombinantes, por ejemplo, como se describe en la patente de EE. UU. n.º 4.816.567. En un modo de realización, se proporciona un ácido nucleico aislado

que codifica un anticuerpo anti-CD79b descrito en el presente documento. Dicho ácido nucleico puede codificar una secuencia de aminoácidos que comprende el VL y/o una secuencia de aminoácidos que comprende el VH del anticuerpo (por ejemplo, las cadenas ligera y/o pesada del anticuerpo). En otro modo de realización, se proporcionan uno o más vectores (por ejemplo, vectores de expresión) que comprenden dicho ácido nucleico. En otro modo de realización, se proporciona una célula huésped que comprende dicho ácido nucleico. En un modo de realización de este tipo, una célula huésped comprende (por ejemplo, se ha transformado con): (1) un vector que comprende un ácido nucleico que codifica una secuencia de aminoácidos que comprende el VL del anticuerpo y una secuencia de aminoácidos que comprende el VH del anticuerpo, o (2) un primer vector que comprende un ácido nucleico que codifica una secuencia de aminoácidos que comprende el VL del anticuerpo y un segundo vector que comprende un ácido nucleico que codifica una secuencia de aminoácidos que comprende el VH del anticuerpo. En un aspecto de la divulgación, la célula huésped es eucariota, por ejemplo, una célula de ovario de hámster chino (CHO) o una célula linfocítica (por ejemplo, una célula Y0, NS0, Sp20). En un aspecto de la divulgación, se proporciona un procedimiento de preparación de un anticuerpo anti-CD79b, en el que el procedimiento comprende cultivar una célula huésped que comprende un ácido nucleico que codifica el anticuerpo, como se proporciona anteriormente, en condiciones adecuadas para la expresión del anticuerpo y, opcionalmente, recuperar el anticuerpo de la célula huésped (o medio de cultivo de células huésped).

Para la producción recombinante de un anticuerpo anti-CD79b, el ácido nucleico que codifica un anticuerpo, por ejemplo, como se describe anteriormente, se aísla e inserta en uno o más vectores para su clonación y/o expresión adicional en una célula huésped. Dicho ácido nucleico se puede aislar y secuenciar fácilmente usando procedimientos convencionales (por ejemplo, usando sondas de oligonucleótidos que se pueden unir específicamente a genes que codifican las cadenas pesada y ligera del anticuerpo).

Las células huésped adecuadas para la clonación o la expresión de vectores que codifican el anticuerpo incluyen las células procariotas o eucariotas descritas en el presente documento. Por ejemplo, los anticuerpos se pueden producir en bacterias, en particular, cuando no se necesitan ni glucosilación ni la función efectora de Fc. Para la expresión de los fragmentos de anticuerpo y polipéptidos en bacterias, véanse, por ejemplo, las patentes de EE. UU. n.ºs 5.648.237, 5.789.199 y 5.840.523. (Véase también Charlton, *Methods in Molecular Biology*, vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245-254, que describe la expresión de fragmentos de anticuerpo en *E. coli.*). Después de su expresión, se puede aislar el anticuerpo de la pasta de células bacterianas en una fracción soluble y se puede purificar adicionalmente.

Además de los procariotas, los microbios eucariotas, tales como los hongos filamentosos o levaduras, son huéspedes de clonación o expresión adecuados para vectores que codifican el anticuerpo, incluyendo cepas de hongos y levaduras en las que sus vías de glucosilación se han "humanizado", dando como resultado la producción de un anticuerpo con un patrón de glucosilación parcial o completamente humano. Véanse Gerngross, *Nat. Biotech.* 22:1409-1414 (2004) y Li *et al.*, *Nat. Biotech.* 24:210-215 (2006).

Las células huésped adecuadas para la expresión del anticuerpo glucosilado también se derivan de organismos multicelulares (invertebrados y vertebrados). Los ejemplos de células de invertebrado incluyen células vegetales y de insecto. Se han identificado numerosas cepas baculovíricas que se pueden usar junto con células de insecto, en particular, para la transfección de células de *Spodoptera frugiperda*.

También se pueden utilizar cultivos de células vegetales como huéspedes. Véanse, por ejemplo, las patentes de EE. UU. n.ºs 5.959.177, 6.040.498, 6.420.548, 7.125.978 y 6.417.429 (que describen la tecnología PLANTIBODIES™ para producir anticuerpos en plantas transgénicas).

También se pueden usar células de vertebrado como huéspedes. Por ejemplo, pueden ser útiles líneas de células de mamífero que se adapten para su cultivo en suspensión. Otros ejemplos de líneas de células huésped de mamífero útiles son la línea CV1 de riñón de mono transformada por SV40 (COS-7); línea de riñón embrionario humano (células 293 o 293, como se describe, por ejemplo, en Graham *et al.*, *J. Gen Virol.* 36:59 (1977)); células de riñón de cría de hámster (BHK); células de Sertoli de ratón (células TM4 como se describe, por ejemplo, en Mather, *Biol. Reprod.* 23:243-251 (1980)); células de riñón de mono (CV1); células de riñón de mono verde africano (VERO-76); células de carcinoma de cuello uterino humano (HELA); células de riñón canino (MDCK); células de hígado de rata búfalo (BRL 3A); células de pulmón humano (W138); células de hígado humano (Hep G2); células de tumor mamario de ratón (MMT 060562); células TRI, como se describe, por ejemplo, en Mather *et al.*, *Annals N.Y. Acad. Sci.* 383:44-68 (1982); células MRC 5; y células FS4. Otras líneas de células huésped de mamífero útiles incluyen células de ovario de hámster chino (CHO), incluyendo células CHO DHFR⁻ (Urlaub *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216 (1980)); y líneas de células de mieloma, tales como Y0, NS0 y Sp2/0. Para una revisión de determinadas líneas de células huésped de mamífero adecuadas para la producción de anticuerpos, véase, por ejemplo, Yazaki y Wu, *Methods in Molecular Biology*, vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003).

C. Ensayos

Los anticuerpos anti-CD79b proporcionados en el presente documento se pueden identificar, cribar para determinar o caracterizar para determinar sus propiedades físicas/químicas y/o actividades biológicas mediante diversos ensayos

conocidos en la técnica.

1. Ensayos de unión y otros ensayos

5 En un aspecto, un anticuerpo de la invención se somete a prueba para determinar su actividad de unión a antígeno, por ejemplo, mediante procedimientos conocidos, tales como ELISA, inmunoelectrotransferencia, etc.

10 En otro aspecto, se pueden usar ensayos de competencia para identificar un anticuerpo que compita con un anticuerpo anti-CD79b descrito en el presente documento en cuanto a su unión a CD79b. En determinados aspectos de la divulgación, dicho anticuerpo competidor se une al mismo epítipo (por ejemplo, un epítipo lineal o uno conformacional) que se une mediante un anticuerpo anti-CD79b descrito en el presente documento. Se proporcionan procedimientos ejemplares detallados para cartografiar un epítipo al que se une un anticuerpo en Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols", en *Methods in Molecular Biology* vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ).

15 En un ensayo de competencia ejemplar, se incuba la CD79b inmovilizada en una solución que comprende un primer anticuerpo marcado que se une a CD79b (por ejemplo, un anticuerpo anti-CD79b descrito en el presente documento) y un segundo anticuerpo no marcado que se somete a prueba para determinar su capacidad de competir con el primer anticuerpo en cuanto a su unión a CD79b. El segundo anticuerpo puede estar presente en un sobrenadante de hibridoma. Como control, se incuba la CD79b inmovilizada en una solución que comprende el primer anticuerpo
20 marcado, pero no el segundo anticuerpo no marcado. Después de su incubación, en condiciones que permitan la unión del primer anticuerpo a CD79b, se retira el anticuerpo no unido en exceso y se mide la cantidad de marcador asociado con la CD79b inmovilizada. Si se reduce sustancialmente la cantidad de marcador asociado con la CD79b inmovilizada en la muestra de prueba en relación con la muestra de control, entonces, eso indica que el segundo anticuerpo está compitiendo con el primer anticuerpo en cuanto a su unión a CD79b. Véase Harlow y Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* cap.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY).

2. Ensayos de actividad

30 En un aspecto, se proporcionan ensayos para identificar anticuerpos anti-CD79b (por ejemplo, el anticuerpo TDB anti-CD79b/CD3) de los mismos que tengan actividad biológica. La actividad biológica puede incluir, por ejemplo, la capacidad de inhibir el crecimiento o proliferación de células (por ejemplo, la actividad de "destrucción de las células"), la capacidad de inducir la muerte de las células, incluyendo la muerte de las células programada (apoptosis), o la actividad de unión a antígeno. También se proporcionan anticuerpos que tienen dicha actividad biológica *in vivo* y/o
35 *in vitro*.

En algunos modos de realización, la actividad comprende la capacidad de mantener la destrucción de linfocitos B y/o la activación de linfocitos T citotóxicos. En determinados modos de realización, un anticuerpo anti-CD79b (por ejemplo, un anticuerpo TDB anti-CD79b/CD3) de la invención se somete a prueba para determinar dichas destrucción de linfocitos B y/o activación del efecto citotóxico de la actividad biológica de linfocitos T mediante cualquiera de los
40 procedimientos descritos en el presente documento, en particular, los ejemplos. En algunos aspectos de la divulgación de cualquiera de estos ensayos de actividad, las PBMC se pueden aislar de sangre completa de donantes sanos mediante separación por Ficoll. En particular, se puede extraer sangre humana en jeringuillas heparinizadas y las PBMC se aislaron usando Leucosep y Ficoll Paque Plus. Si fuera necesario, los linfocitos T CD4+ y T CD8+ se pueden separar con los kits de Miltenyi de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

45 Además, las células se pueden lavar en medio RPMI que contiene FBS al 10 %, complementado con GlutaMax, penicilina y estreptomycin, y se añadieron ~0,2 millones de células suspendidas a una placa de fondo en U de 96 pocillos. Las células se pueden cultivar en RPMI1640 complementado con FBS al 10 % a 37 °C en una estufa de incubación para cultivos de células estándar humidificada. Para los ensayos de destrucción de células BJAB, se pueden incubar 20.000 células BJAB con células efectoras como huPBMC o bien linfocitos T purificados según las proporciones indicadas por ensayo, en presencia de diversas concentraciones de anticuerpos TDB durante 24 horas. Para los ensayos de destrucción de linfocitos B endógenos, se pueden incubar 200.000 huPBMC con diversas concentraciones de anticuerpos TDB durante 24 horas.

50 Después de su cultivo, se pueden lavar las células con tampón para FACS (BSA al 0,5 %, ácido de Na al 0,05 % en PBS). A continuación, se pueden teñir las células en tampón para FACS, lavar con tampón para FACS y suspender en 100 µl de tampón para FACS que contenga 1 µg/ml de yoduro de propidio. Se pueden obtener los datos en un citómetro de flujo FACSCalibur y analizar usando FlowJo. Los linfocitos B vivos se pueden seleccionar como linfocitos B PI-CD19+ o PI-CD20+ mediante FACS, y se puede obtener un recuento de células absoluto con microesferas de FITC añadidas a la mezcla de reacción como control de recuento interno. El % de destrucción de las células se puede calcular en base a controles no tratados con TDB. Los linfocitos T activados se pueden detectar mediante expresión en la superficie de CD69 y CD25 usando anti-CD69-FITC y anti-CD25-PE.

D. Inmunoconjugados

65 La invención también proporciona inmunoconjugados que comprenden un anticuerpo anti-CD79b en el presente

documento conjugado con uno o más agentes citotóxicos, tales como agentes o fármacos quimioterápicos, agentes inhibidores del crecimiento, toxinas (por ejemplo, toxinas proteicas, toxinas enzimáticamente activas de origen bacteriano, fúngico, vegetal o animal o fragmentos de las mismas) o isótopos radioactivos.

5 En un aspecto de la divulgación, un inmunoconjugado es un conjugado anticuerpo-fármaco (CAF) en el que un anticuerpo se conjuga con uno o más fármacos, incluyendo, pero sin limitarse a, un maitansinoide (véanse las patentes de EE. UU. n.ºs 5.208.020, 5.416.064 y la patente europea EP 0 425 235 B1); una auristatina, tal como los restos de fármaco de monometilauristatina DE y DF (MMAE y MMAF) (véanse las patentes de EE. UU. n.ºs 5.635.483 y 5.780.588 y 7.498.298); una dolastatina; una calicheamicina o derivado de la misma (véanse las patentes de EE. UU. n.ºs 5.712.374, 5.714.586, 5.739.116, 5.767.285, 5.770.701, 5.770.710, 5.773.001 y 5.877.296; Hinman *et al.*, *Cancer Res.* 53:3336-3342 (1993); y Lode *et al.*, *Cancer Res.* 58:2925-2928 (1998)); una antraciclina, tal como daunomicina o doxorubicina (véanse Kratz *et al.*, *Current Med. Chem.* 13:477-523 (2006); Jeffrey *et al.*, *Bioorganic & Med. Chem. Letters* 16:358-362 (2006); Torgov *et al.*, *Bioconj. Chem.* 16:717-721 (2005); Nagy *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:829-834 (2000); Dubowchik *et al.*, *Bioorg. & Med. Chem. Letters* 12:1529-1532 (2002); King *et al.*, *J. Med. Chem.* 45:4336-4343 (2002); y la patente de EE. UU. n.º 6.630.579); metotrexato; vindesina; un taxano, tal como docetaxel, paclitaxel, larotaxel, tesetaxel y ortataxel; un tricoteceno; y CC1065.

En otro aspecto de la divulgación, un inmunoconjugado comprende un anticuerpo como se describe en el presente documento conjugado con una toxina enzimáticamente activa o fragmento de la misma, incluyendo, pero sin limitarse a, la cadena A de difteria, fragmentos activos que no se unen de la toxina diftérica, la cadena A de exotoxina (de *Pseudomonas aeruginosa*), la cadena A de ricina, la cadena A de abrina, la cadena A de modeccina, alfa-sarcina, proteínas de *Aleurites fordii*, proteínas de diantina, proteínas de *Phytolaca americana* (PAPI, PAPII y PAP-S), inhibidor de *Momordica charantia*, curcina, crotina, inhibidor de *Saponaria officinalis*, gelonina, mitogelina, restrictocina, fenomicina, enomicina y los tricotecenos.

En otro aspecto de la divulgación, un inmunoconjugado comprende un anticuerpo como se describe en el presente documento conjugado con un átomo radioactivo para formar un radioconjugado. Están disponibles una variedad de isótopos radioactivos para la producción de radioconjugados. Los ejemplos incluyen At²¹¹, I¹³¹, I¹²⁵, Y⁹⁰, Re¹⁸⁶, Re¹⁸⁸, Sm¹⁵³, Bi²¹², P³², Pb²¹² e isótopos radioactivos de Lu. Cuando se usa el radioconjugado para la detección, puede comprender un átomo radioactivo para estudios gammagráficos, por ejemplo, tc99m o I123, o un marcador de espín para resonancia magnética nuclear (RMN) (también conocida como resonancia magnética, RM), tal como yodo-123, de nuevo, yodo-131, indio-111, flúor-19, carbono-13, nitrógeno-15, oxígeno-17, gadolinio, manganeso o hierro.

Se pueden preparar conjugados de un anticuerpo y agente citotóxico usando una variedad de agentes de acoplamiento de proteínas bifuncionales, tales como 3-(2-piridilditio)propionato de N-succinimidilo (SPDP), 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato de succinimidilo (SMCC), iminotiolano (IT), derivados bifuncionales de imidoésteres (tales como adipimidato de dimetilo HCl), ésteres activos (tales como suberato de disuccinimidilo), aldehídos (tales como glutaraldehído), compuestos de bis-azido (tales como bis(p-azidobenzoi)hexanodiamina), derivados de bis-diazonio (tales como bis-(p-diazoniobenzoi)-etilendiamina), diisocianatos (tales como toluen-2,6-diisocianato) y compuestos de flúor bis-activos (tales como 1,5-difluoro-2,4-dinitrobenceno). Por ejemplo, se puede preparar una inmunotoxina de ricina, como se describe en Vitetta *et al.*, *Science* 238:1098 (1987). El ácido 1-isotiocianatobencil-3-metildietilentriaminopentaacético (MX-DTPA) marcado con carbono 14 es un agente quelante ejemplar para la conjugación del radionúclido con el anticuerpo. Véase el documento WO94/11026. El conector puede ser un "conector escindible" que facilite la liberación de un fármaco citotóxico en la célula. Por ejemplo, se puede usar un conector lábil en ácido, conector sensible a peptidasa, conector fotolábil, conector de dimetilo o conector que contiene disulfuro (Chari *et al.*, *Cancer Res.* 52:127-131 (1992); patente de EE. UU. n.º 5.208.020).

Los inmunoconjugados o CAF en el presente documento contemplan expresamente, pero no se limitan a, dichos conjugados preparados con reactivos de reticulación, incluyendo, pero sin limitarse a, BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, sulfo-EMCS, sulfo-GMBS, sulfo-KMUS, sulfo-MBS, sulfo-SIAB, sulfo-SMCC y sulfo-SMPB y SVSB ((4-vinilsulfona)benzoato de succinimidilo), que están disponibles comercialmente (por ejemplo, de Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL., EE. UU.).

E. Procedimientos y composiciones para el diagnóstico y la detección

En otro aspecto, los anticuerpos anti-CD79b de la invención son útiles para detectar la presencia de CD79b en una muestra biológica. El término "detectar" como se usa en el presente documento engloba la detección cuantitativa o cualitativa. En determinados aspectos de la divulgación, una muestra biológica comprende una célula o tejido. En determinados aspectos de la divulgación, dichos tejidos incluyen tejidos normales y/o cancerosos que expresan CD79b a niveles más altos en relación con otros tejidos, por ejemplo, linfocitos B y/o tejidos asociados con linfocitos B.

En un aspecto de la divulgación, se proporciona un anticuerpo anti-CD79b para su uso en un procedimiento de diagnóstico o detección. En otro aspecto, se proporciona un procedimiento de detección de la presencia de CD79b en una muestra biológica. En determinados aspectos de la divulgación, el procedimiento comprende poner en contacto la muestra biológica con un anticuerpo anti-CD79b como se describe en el presente documento en condiciones que

permitan la unión del anticuerpo anti-CD79b a CD79b, y detectar si se forma un complejo entre el anticuerpo anti-CD79b y CD79b. Dicho procedimiento puede ser un procedimiento *in vitro* o *in vivo*. En un aspecto de la divulgación, se usa un anticuerpo anti-CD79b para seleccionar sujetos idóneos para el tratamiento con un anticuerpo anti-CD79b, por ejemplo, donde CD79b es un biomarcador para la selección de pacientes.

Los trastornos proliferativos celulares ejemplares que se pueden diagnosticar usando un anticuerpo de la invención incluyen un trastorno de linfocitos B y/o un trastorno proliferativo de linfocitos B incluyendo, pero sin limitarse a, linfoma, linfoma no hodgkiniano (LNH), LNH de gran malignidad, LNH recidivante de gran malignidad, LNH recidivante de escasa malignidad, LNH insensible al tratamiento, LNH de escasa malignidad insensible al tratamiento, leucemia linfocítica crónica (LLC), linfoma linfocítico pequeño, leucemia, tricoleucemia (TL), leucemia linfocítica aguda (LLA) y linfoma de células del manto.

Se pueden usar otros procedimientos determinados para detectar la unión de anticuerpos anti-CD79b a CD79b. Dichos procedimientos incluyen, pero no se limitan a, ensayos de unión a antígeno que son bien conocidos en la técnica, tales como inmunolectrotransferencias, radioinmunoensayos, ELISA (ensayo de inmunoabsorción enzimática), inmunoensayos de tipo "sándwich", ensayos de inmunoprecipitación, inmunoensayos fluorescentes, inmunoensayos con proteína A e inmunohistoquímica (IHQ).

En determinados aspectos de la divulgación, se proporcionan anticuerpos anti-CD79b marcados. Los marcadores incluyen, pero no se limitan a, marcadores o restos que se detectan directamente (tales como marcadores fluorescentes, cromóforos, electrodenso, quimioluminiscentes y radioactivos), así como restos, tales como enzimas o ligandos, que se detectan indirectamente, por ejemplo, a través de una reacción enzimática o interacción molecular. Los marcadores ejemplares incluyen, pero no se limitan a, los radioisótopos ^{32}P , ^{14}C , ^{125}I , ^3H y ^{131}I , fluoróforos, tales como quelatos de tierras raras o fluoresceína y sus derivados, rodamina y sus derivados, dansilo, umbeliferona, luciferasas, por ejemplo, luciferasa de luciérnaga y luciferasa bacteriana (patente de EE. UU. n.º 4.737.456), luciferina, 2,3-dihidroftalazindionas, peroxidasa de rábano picante (HRP), fosfatasa alcalina, β -galactosidasa, glucoamilasa, lisozima, oxidasas de sacáridos, por ejemplo, glucosa oxidasa, galactosa oxidasa y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, oxidasas heterocíclicas, tales como uricasa y xantina oxidasa, que se acoplan con una enzima que emplea peróxido de hidrógeno para oxidar un precursor de tinte, tal como HRP, lactoperoxidasa o microperoxidasa, biotina/avidina, marcadores de espín, marcadores de bacteriófagos, radicales libres estables y similares.

F. Formulaciones farmacéuticas

Las formulaciones farmacéuticas de un anticuerpo anti-CD79b como se describe en el presente documento se preparan mezclando dicho anticuerpo que tiene el grado deseado de pureza con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables opcionales (*Remington's Pharmaceutical Sciences* 16.ª edición, Osol, A. Ed. (1980)), en forma de formulaciones liofilizadas o soluciones acuosas. Los vehículos farmacéuticamente aceptables, en general, no son tóxicos para los destinatarios a las dosificaciones y concentraciones empleadas e incluyen, pero no se limitan a: tampones, tales como fosfato, citrato y otros ácidos orgánicos; antioxidantes, incluyendo ácido ascórbico y metionina; conservantes (tales como cloruro de octadecildimetilbencilamonio; cloruro de hexametonio; cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio; fenol, alcohol butílico o bencilico; alquilparabenos, tales como metil- o propilparabeno; catecol; resorcinol; ciclohexanol; 3-pentanol; y m-cresol); polipéptidos de peso molecular bajo (de menos de aproximadamente 10 residuos); proteínas, tales como seroalbúmina, gelatina o inmunoglobulinas; polímeros hidrófilos, tales como polivinilpirrolidona; aminoácidos, tales como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina o lisina; monosacáridos, disacáridos y otros carbohidratos, incluyendo glucosa, manosa o dextrinas; agentes quelantes, tales como EDTA; glúcidos, tales como sacarosa, manitol, trehalosa o sorbitol; contraiones formadores de sales, tales como sodio; complejos de metal (por ejemplo, complejos Zn-proteína) y/o tensioactivos no iónicos, tales como polietilenglicol (PEG). Los vehículos farmacéuticamente aceptables ejemplares en el presente documento incluyen además agentes de dispersión intersticial de fármacos, tales como glucoproteínas de hialuronidasa activa a pH neutro soluble (sHASEGP), por ejemplo, glucoproteínas de hialuronidasa PH-20 soluble humana, tales como rHuPH20 (HYLENEX®, Baxter International, Inc.). Se describen determinadas sHASEGP ejemplares y procedimientos de uso, incluyendo rHuPH20, en las publicaciones de patente de EE. UU. n.ºs 2005/0260186 y 2006/0104968. En un aspecto, se combina una sHASEGP con una o más glucosaminoglucanasas adicionales, tales como condroitinasas.

Se describen formulaciones de anticuerpos liofilizadas ejemplares en la patente de EE. UU. n.º 6.267.958. Las formulaciones de anticuerpos acuosas incluyen las descritas en la patente de EE. UU. n.º 6.171.586 y el documento WO 2006/044908, incluyendo estas últimas formulaciones un tampón histidina-acetato.

Las formulaciones en el presente documento también pueden contener más de un compuesto activo, según sea necesario, para la indicación particular que se trate, preferentemente aquellos con actividades complementarias que no se vean afectadas de forma adversa entre sí. Por ejemplo, además de un anticuerpo anti-CD79b, puede ser deseable incluir en la formulación un anticuerpo adicional, por ejemplo, un segundo anticuerpo anti-CD79b, que se una a un epítipo diferente en el polipéptido CD79b, o un anticuerpo para alguna otra diana, tal como un factor de crecimiento que afecte al crecimiento del cáncer particular. De forma alternativa, o adicionalmente, la composición puede comprender además un agente citotóxico, un agente citotóxico, una citocina, un agente inhibidor del crecimiento, un agente antihormonal y/o un cardioprotector. Dichas moléculas están presentes de forma adecuada en

combinación en cantidades que sean eficaces para el propósito pretendido.

Los ingredientes activos se pueden atrapar en microcápsulas preparadas, por ejemplo, mediante técnicas de coacervación o mediante polimerización interfacial, por ejemplo, hidroximetilcelulosa o microcápsulas de gelatina y microcápsulas de poli(metacrilato de metilo), respectivamente, en sistemas de administración de fármacos coloidales (por ejemplo, liposomas, microesferas de albúmina, microemulsiones, nanopartículas y nanocápsulas) o en macroemulsiones. Dichas técnicas se divulgan en *Remington's Pharmaceutical Sciences* 16.^a edición, Osol, A. (ed.) (1980).

Se pueden preparar preparaciones de liberación mantenida. Los ejemplos adecuados de preparaciones de liberación mantenida incluyen matrices semipermeables de polímeros hidrófobos sólidos que contienen el anticuerpo, estando dichas matrices en forma de artículos conformados, por ejemplo, películas o microcápsulas.

Las formulaciones que se van a usar para su administración *in vivo* son, en general, estériles. Se puede conseguir fácilmente la esterilidad, por ejemplo, mediante filtración a través de membranas de filtración estériles.

G. Composiciones y procedimientos terapéuticos

Se puede usar cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b (por ejemplo, un anticuerpo TDB anti-CD79b/CD3) proporcionado en el presente documento en procedimientos terapéuticos.

En un aspecto, se proporciona un anticuerpo anti-CD79b (por ejemplo, un anticuerpo TDB anti-CD79b/CD3) para su uso como un medicamento. En otros aspectos, se proporciona un anticuerpo anti-CD79b (por ejemplo, un anticuerpo TDB anti-CD79b/CD3) para su uso en el tratamiento o retraso de la progresión de un trastorno proliferativo celular (por ejemplo, cáncer y/o enfermedad proliferativa de linfocitos B). En determinados modos de realización, se proporciona un anticuerpo anti-CD79b (por ejemplo, un anticuerpo biespecífico anti-CD79b/anti-CD3) para su uso en un procedimiento de tratamiento. En determinados modos de realización, la invención proporciona un anticuerpo anti-CD79b (por ejemplo, un anticuerpo TDB anti-CD79b/CD3) para su uso en un procedimiento de tratamiento de un individuo que tiene un trastorno proliferativo celular, que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz del anticuerpo anti-CD79b (por ejemplo, un anticuerpo TDB anti-CD79b/CD3). En un modo de realización de este tipo, el procedimiento comprende además administrar al individuo una cantidad eficaz de al menos un agente terapéutico adicional, por ejemplo, como se describe a continuación. En otros aspectos de la divulgación, la invención proporciona un anticuerpo anti-CD79b (por ejemplo, un anticuerpo TDB anti-CD79b/CD3) para su uso en la potenciación de la función inmunitaria en un individuo que tiene un trastorno proliferativo celular. En determinados aspectos de la divulgación, la invención proporciona un anticuerpo anti-CD79b (por ejemplo, un anticuerpo TDB anti-CD79b/CD3) para su uso en un procedimiento de potenciación de la función inmunitaria en un individuo que tiene un trastorno proliferativo celular, que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz del anticuerpo anti-CD79b (por ejemplo, un anticuerpo TDB anti-CD79b/CD3) para activar las células efectoras (por ejemplo, los linfocitos T, por ejemplo, los linfocitos T CD8+ y/o CD4+), expandir (incrementar) una población de células efectoras, y/o destruir una célula diana (por ejemplo, un linfocito B diana). Un "individuo" de acuerdo con cualquiera de los aspectos anteriores de la divulgación puede ser un ser humano.

En otro aspecto, la invención proporciona el uso de un anticuerpo anti-CD79b (por ejemplo, un anticuerpo TDB anti-CD79b/CD3) en la fabricación o preparación de un medicamento. En un modo de realización, el medicamento es para el tratamiento de un trastorno proliferativo celular (por ejemplo, cáncer y/o trastorno proliferativo de linfocitos B). En otro modo de realización, el medicamento es para su uso en un procedimiento de tratamiento de un trastorno proliferativo celular, que comprende administrar a un individuo que tiene un trastorno proliferativo celular una cantidad eficaz del medicamento. En un modo de realización de este tipo, el procedimiento comprende además administrar al individuo una cantidad eficaz de al menos un agente terapéutico adicional, por ejemplo, como se describe a continuación. En otro aspecto de la divulgación, el medicamento es para activar las células efectoras (por ejemplo, los linfocitos T, por ejemplo, los linfocitos T CD8+ y/o CD4+), expandir (incrementar) una población de células efectoras y/o destruir células diana (por ejemplo, los linfocitos B diana) en el individuo. En otro aspecto de la divulgación, el medicamento es para su uso en un procedimiento de potenciación de la función inmunitaria en un individuo que tiene un trastorno proliferativo celular o un trastorno autoinmunitario, que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz del medicamento para activar las células efectoras (por ejemplo, los linfocitos T, por ejemplo, los linfocitos T CD8+ y/o CD4+), expandir (incrementar) una población de células efectoras y/o destruir una célula diana (por ejemplo, un linfocito B diana). Un "individuo" de acuerdo con cualquiera de los aspectos anteriores de la divulgación puede ser un ser humano.

En otro aspecto, la invención proporciona un procedimiento para tratar un trastorno proliferativo celular (por ejemplo, cáncer y/o trastorno proliferativo de linfocitos B). En un modo de realización, el procedimiento comprende administrar a un individuo que tiene dicho trastorno proliferativo celular una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-CD79b (por ejemplo, un anticuerpo TDB anti-CD79b/CD3). En un modo de realización de este tipo, el procedimiento comprende además administrar al individuo una cantidad eficaz de al menos un agente terapéutico adicional, por ejemplo, como se describe a continuación. Un "individuo" de acuerdo con cualquiera de los aspectos anteriores de la divulgación puede ser un ser humano.

En otro aspecto, la invención proporciona un procedimiento para potenciar la función inmunitaria en un individuo que tiene un trastorno proliferativo celular en un individuo que tiene un trastorno proliferativo celular. En un aspecto de la divulgación, el procedimiento comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-CD79b (por ejemplo, un anticuerpo TDB anti-CD79b/CD3) para activar las células efectoras (por ejemplo, los linfocitos T, por ejemplo, los linfocitos T CD8+ y/o CD4+), expandir (incrementar) una población de células efectoras y/o destruir una célula diana (por ejemplo, un linfocito B diana). En un aspecto de la divulgación, un "individuo" es un ser humano.

Se puede usar un anticuerpo anti-CD79b (por ejemplo, un anticuerpo TDB anti-CD79b/CD3) de la invención, por ejemplo, en procedimientos terapéuticos *in vitro*, *ex vivo* e *in vivo*. En un aspecto, la invención proporciona procedimientos para inhibir el crecimiento o proliferación de células, *in vivo* o bien *in vitro*, comprendiendo el procedimiento exponer una célula a un anticuerpo anti-CD79b del mismo en condiciones que permitan la unión a CD79b. "Inhibir el crecimiento o proliferación de células" significa disminuir el crecimiento o proliferación de una célula en al menos un 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 % o 100 %, e incluye inducir la muerte de las células. En determinados aspectos de la divulgación, la célula es una célula tumoral. En determinados modos de realización, la célula es un linfocito B. En determinados aspectos de la divulgación, la célula es un xenoinjerto, por ejemplo, como se ejemplifica en el presente documento.

En un aspecto, se usa un anticuerpo anti-CD79b (por ejemplo, un anticuerpo TDB anti-CD79b/CD3) de la invención para tratar o prevenir un trastorno proliferativo de linfocitos B. En determinados aspectos de la divulgación, el trastorno proliferativo celular se asocia con una expresión y/o actividad de CD79b incrementada. Por ejemplo, en determinados aspectos de la divulgación, el trastorno proliferativo de linfocitos B se asocia con una expresión incrementada de CD79b en la superficie de un linfocito B. En determinados modos de realización, el trastorno proliferativo de linfocitos B es un tumor o un cáncer. Los ejemplos de trastornos proliferativos de linfocitos B que se van a tratar mediante los anticuerpos de la invención incluyen, pero no se limitan a, linfoma, linfoma no hodgkiniano (LNH), LNH de gran malignidad, LNH recidivante de gran malignidad, LNH recidivante de escasa malignidad, LNH insensible al tratamiento, LNH de escasa malignidad insensible al tratamiento, leucemia linfocítica crónica (LLC), linfoma linfocítico pequeño, leucemia, tricoleucemia (TL), leucemia linfocítica aguda (LLA) y linfoma de células del manto. En algunos aspectos de la divulgación de cualquiera de los trastornos proliferativos de linfocitos B, el trastorno proliferativo de linfocitos B es resistente al tratamiento con un inmunocombinado de anti-CD79b (por ejemplo, un inmunocombinado anti-CD79b-MMAE).

En otro aspecto, la invención proporciona formulaciones farmacéuticas que comprenden cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b (por ejemplo, un anticuerpo TDB anti-CD79b/CD3) proporcionados en el presente documento, por ejemplo, para su uso en cualquiera de los procedimientos terapéuticos anteriores. En un aspecto de la divulgación, una formulación farmacéutica comprende cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b proporcionados en el presente documento y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En otro aspecto de la divulgación, una formulación farmacéutica comprende cualquiera de los anticuerpos anti-CD79b (por ejemplo, un anticuerpo TDB anti-CD79b/CD3) proporcionado en el presente documento y al menos un agente terapéutico adicional, por ejemplo, como se describe a continuación.

En un aspecto de la divulgación, la enfermedad proliferativa de linfocitos B incluye, pero no se limita a, linfomas (por ejemplo, linfomas no hodgkinianos (LNH) de linfocitos B) y leucemias linfocíticas. Dichos linfomas y leucemias linfocíticas incluyen, por ejemplo, a) linfomas foliculares, b) linfomas de células pequeñas no hendidas/linfoma de Burkitt (incluyendo linfoma de Burkitt endémico, linfoma de Burkitt esporádico y linfoma distinto de linfoma de Burkitt), c) linfomas de la zona marginal (incluyendo linfoma extraganglionar de linfocitos B de la zona marginal (linfomas de tejidos linfáticos asociados a mucosas, TLAM), linfoma ganglionar de linfocitos B de la zona marginal y linfoma esplénico de la zona marginal), d) linfoma de células del manto (LCM), e) linfoma de células grandes (incluyendo linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL), linfoma difuso de células mixtas, linfoma inmunoblástico, linfoma mediastínico primario de linfocitos B, linfoma angiocéntrico-linfoma pulmonar de linfocitos B), f) tricoleucemia, g) linfoma linfocítico, macroglobulinemia de Waldenström, h) leucemia linfocítica aguda (LLA), leucemia linfocítica crónica (LLC)/linfoma linfocítico pequeño (LLP), leucemia prolinfocítica de linfocitos B, i) neoplasias de células plasmáticas, mieloma de células plasmáticas, mieloma múltiple, plasmocitoma y/o j) enfermedad de Hodgkin.

En algunos modos de realización de cualquiera de los procedimientos, el trastorno proliferativo de linfocitos B es cáncer. En algunos modos de realización, el trastorno proliferativo de linfocitos B es linfoma, linfoma no hodgkiniano (LNH), LNH de gran malignidad, LNH recidivante de gran malignidad, LNH recidivante de escasa malignidad, LNH insensible al tratamiento, LNH de escasa malignidad insensible al tratamiento, leucemia linfocítica crónica (LLC), linfoma linfocítico pequeño, leucemia, tricoleucemia (TL), leucemia linfocítica aguda (LLA) o linfoma de células del manto. En algunos modos de realización, el trastorno proliferativo de linfocitos B es LNH, tal como LNH de escasa malignidad y/o LNH de gran malignidad. En algunos modos de realización, el trastorno proliferativo de linfocitos B es un linfoma folicular de escasa malignidad o linfoma difuso de linfocitos B grandes. En algunos aspectos de la divulgación de cualquiera de los trastornos proliferativos de linfocitos B, el trastorno proliferativo de linfocitos B es resistente al tratamiento con un inmunocombinado de anti-CD79b (por ejemplo, un inmunocombinado anti-CD79b-MMAE).

Los anticuerpos de la invención se pueden usar solos o bien en combinación con otros agentes en un tratamiento. Por ejemplo, se puede coadministrar un anticuerpo de la invención con al menos un agente terapéutico adicional y/o adyuvante. En determinados modos de realización, un agente terapéutico adicional es un agente citotóxico, un agente quimioterápico o un agente inhibidor del crecimiento. En uno de dichos aspectos de la divulgación, un agente quimioterápico es un agente o una combinación de agentes, tales como, por ejemplo, ciclofosfamida, hidroxidaunorrubicina, adriamicina, doxorubicina, vincristina (Oncovin™), prednisolona, CHOP, CHP, CVP o COP, o inmunoterápicos, tales como anti-CD20 (por ejemplo, Rituxan®) o anti-VEGF (por ejemplo, Avastin®), en la que la politerapia es útil en el tratamiento de cánceres y/o trastornos de linfocitos B, tales como trastornos proliferativos de linfocitos B, incluyendo linfoma, linfoma no hodgkiniano (LNH), LNH de gran malignidad, LNH recidivante de gran malignidad, LNH recidivante de escasa malignidad, LNH insensible al tratamiento, LNH de escasa malignidad insensible al tratamiento, leucemia linfocítica crónica (LLC), linfoma linfocítico pequeño, leucemia, tricoleucemia (TL), leucemia linfocítica aguda (LLA) y linfoma de células del manto. En otros modos de realización, por ejemplo, se puede coadministrar un anticuerpo de la invención con al menos un agente terapéutico adicional. En determinados aspectos de la divulgación, un agente terapéutico adicional es un agente quimioterápico, agente inhibidor del crecimiento, agente citotóxico, agente usado en radioterapia, agente antiangiogénesis, agente apoptótico, agente antitubulina u otro agente, tal como un antagonista del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) (por ejemplo, un inhibidor de tirosina cinasa), inhibidor de HER1/EGFR (por ejemplo, erlotinib (Tarceva™), inhibidor del factor de crecimiento derivado de plaquetas (por ejemplo, Gleevec™ (mesilato de imatinib)), un inhibidor de COX-2 (por ejemplo, celecoxib), interferón, citocina, anticuerpo distinto del anticuerpo anti-CD3 de la descripción, tal como un anticuerpo que se une a una o más de las siguientes dianas ErbB2, ErbB3, ErbB4, PDGFR-beta, BlyS, APRIL, BCMA VEGF o receptor(es) de VEGF, TRAIL/Apo2, u otro agente químico bioactivo u orgánico.

En algunos aspectos de la divulgación, los procedimientos pueden comprender además un tratamiento adicional. El tratamiento adicional puede ser radioterapia, cirugía, quimioterapia, tratamiento génico, tratamiento del ADN, tratamiento vírico, tratamiento del ARN, inmunoterapia, trasplante de médula ósea, nanoterapia, tratamiento con anticuerpos monoclonales o una combinación de los anteriores. El tratamiento adicional puede ser en forma de tratamiento prequirúrgico o posquirúrgico. En algunos aspectos de la divulgación, el tratamiento adicional es la administración de un agente antimetastásico o inhibidor enzimático de micromoléculas. En algunos aspectos de la divulgación, el tratamiento adicional es la administración de agentes limitantes de los efectos secundarios (por ejemplo, agentes destinados a disminuir la aparición y/o gravedad de los efectos secundarios del tratamiento, tales como agentes antieméticos, etc.). En algunos aspectos de la divulgación, el tratamiento adicional es la radioterapia. En algunos aspectos de la divulgación, el tratamiento adicional es la cirugía. En algunos aspectos de la divulgación, el tratamiento adicional es una combinación de radioterapia y cirugía. En algunos aspectos de la divulgación, el tratamiento adicional es la irradiación gamma. En algunos aspectos de la divulgación, el tratamiento adicional puede ser una administración separada de uno o más de los agentes terapéuticos descritos anteriormente.

En algunos modos de realización de cualquiera de los procedimientos, el agente terapéutico adicional es un glucocorticoide. En algunos aspectos de la divulgación, el glucocorticoide se selecciona del grupo que consiste en dexametasona, hidrocortisona, cortisona, prednisolona, prednisona, metilprednisona, triamcinolona, parametasona, betametasona, fludrocortisona y ésteres, sales y complejos farmacéuticamente aceptables de las mismas. En algunos aspectos de la divulgación, el glucocorticoide es dexametasona. En algunos aspectos de la divulgación, el glucocorticoide es un éster, sal o complejo farmacéuticamente aceptable de dexametasona. En algunos aspectos de la divulgación, el glucocorticoide es dexametasona.

En algunos modos de realización de cualquiera de los procedimientos, el tratamiento adicional comprende un anticuerpo anti-CD20. En algunos modos de realización, el anticuerpo anti-CD20 es rituximab. En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo anti-CD20 es un anticuerpo B-Ly1 humanizado. En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo B-Ly1 humanizado es obinituzumab. En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo anti-CD20 es ofatumumab, ublituximab y/o ibritumomab tiuxetan.

En algunos aspectos de la divulgación de cualquiera de los procedimientos, el tratamiento adicional comprende un agente alquilante. En algunos aspectos de la divulgación, el agente alquilante es ácido 4-[5-[bis(2-cloroetil)amino]-1-metilbenzimidazol-2-il]butanoico y sales del mismo. En algunos aspectos de la divulgación, el agente alquilante es bendamustina.

En algunos aspectos de la divulgación de cualquiera de los procedimientos, el tratamiento adicional comprende un inhibidor de BCL-2. En algunos aspectos de la divulgación, el inhibidor de BCL-2 es 4-(4-([2-(4-clorofenil)-4,4-dimetilciclohex-1-en-1-il]metil)piperacina-1-il)-N-({3-nitro-4-[(tetrahydro-2H-piran-4-ilmetil)amino]fenil}sulfonil)-2-(1H-pirrol[2,3-b]piridin-5-iloxi)benzamida y sales de la misma. En algunos aspectos de la divulgación, el inhibidor de BCL-2 es venetoclax (n.º CAS: 1257044-40-8).

En algunos aspectos de la divulgación de cualquiera de los procedimientos, el tratamiento adicional comprende un inhibidor de fosfoinosítido 3-cinasa (PI3K). En algunos aspectos de la divulgación, el inhibidor de PI3K inhibe la isoforma delta de PI3K (es decir, P110δ). En algunos aspectos de la divulgación, el inhibidor de PI3K es 5-fluoro-3-fenil-2-[(1S)-1-(7H-purin-6-ilamino)propil]-4(3H)-quinazolinona y sales de la misma. En algunos aspectos de la divulgación, el inhibidor de PI3K es idelalisib (n.º CAS: 870281-82-6). En algunos aspectos de la divulgación, el

inhibidor de PI3K inhibe las isoformas alfa y delta de PI3K. En algunos aspectos de la divulgación, el inhibidor de PI3K es 2-{3-[2-(1-isopropil-3-metil-1H-1,2,4-triazol-5-il)-5,6-dihidrobenzo[f]imidazo[1,2-d][1,4]oxazepin-9-il]-1H-pirazol-1-il}-2-metilpropanamida y sales de la misma.

5 En algunos aspectos de la divulgación de cualquiera de los procedimientos, el tratamiento adicional comprende un inhibidor de tirosina cinasa de Bruton (BTK). En algunos aspectos de la divulgación, el inhibidor de BTK es 1-[(3R)-3-[4-amino-3-(4-fenoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il]piperidin-1-il]prop-2-en-1-ona y sales de la misma. En algunos aspectos de la divulgación, el inhibidor de BTK es ibrutinib (n.º CAS: 936563-96-1).

10 En algunos aspectos de la divulgación de cualquiera de los procedimientos, el tratamiento adicional comprende talidomida o un derivado de la misma. En algunos aspectos de la divulgación, la talidomida o un derivado de la misma es (RS)-3-(4-amino-1-oxo 1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)piperidin-2,6-diona y sales de la misma. En algunos aspectos de la divulgación, la talidomida o un derivado de la misma es lendalidomida (n.º CAS: 191732-72-6).

15 En algunos aspectos de la divulgación de cualquiera de los procedimientos, el tratamiento adicional comprende una o más de ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina o prednisolona (CHOP). En algunos modos de realización, el tratamiento adicional comprende además un anticuerpo anti-CD20 como se describe anteriormente (por ejemplo, GA-101 y/o Rituxan).

20 En algunos aspectos de la divulgación de cualquiera de los procedimientos, el tratamiento adicional comprende una o más de ciclofosfamida, doxorubicina o prednisolona (CHP). En algunos modos de realización, el tratamiento adicional comprende además un anticuerpo anti-CD20 como se describe anteriormente (por ejemplo, GA-101 y/o Rituxan). En algunos aspectos de la divulgación, el tratamiento adicional comprende además un conjugado anticuerpo-fármaco de anti-CD79b. En algunos aspectos de la divulgación, el conjugado anticuerpo-fármaco de anti-CD79b es

25 anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE. En algunos aspectos de la divulgación, el conjugado anticuerpo-fármaco de anti-CD79b se describe en uno cualquiera de los documentos US 8.088.378 y/o US 2014/0030280. En algunos aspectos de la divulgación, el conjugado anticuerpo-fármaco de anti-CD79b es polatuzumab vedotin. En algunos aspectos de la divulgación de cualquiera de los trastornos proliferativos de linfocitos B, el trastorno proliferativo de linfocitos B es resistente al tratamiento con un conjugado anticuerpo-fármaco de anti-CD79b (por ejemplo, un conjugado anticuerpo-fármaco anti-CD79b-MMAE). En algunos aspectos de la divulgación, el conjugado anticuerpo-fármaco de anti-CD79b es polatuzumab vedotin.

35 En algunos modos de realización de cualquiera de los procedimientos, el tratamiento adicional comprende un antagonista de unión al eje de PD-1. En algunos modos de realización de cualquiera de los procedimientos, el tratamiento adicional comprende un antagonista de unión a PD-1. En algunos aspectos de la divulgación de cualquiera de los procedimientos, el tratamiento adicional comprende un antagonista de unión a PD-L1. En algunos aspectos de la divulgación de cualquiera de los procedimientos, el tratamiento adicional comprende un antagonista de unión a PD-L2.

40 En algunos aspectos de la divulgación de cualquiera de los procedimientos, un anticuerpo de la invención (y cualquier agente terapéutico adicional) se puede administrar mediante cualquier medio adecuado, incluyendo administración parenteral, intrapulmonar e intranasal y, si se desea para el tratamiento local, intralesional. Las infusiones parenterales incluyen administración intramuscular, intravenosa, intrarterial, intraperitoneal o subcutánea. La dosificación puede ser mediante cualquier vía adecuada, por ejemplo, mediante inyecciones, tales como inyecciones intravenosas o subcutáneas, dependiendo, en parte, de si la administración es breve o prolongada. En el presente documento, se contemplan diversas pautas posológicas, incluyendo, pero sin limitarse a, administraciones únicas o múltiples en diversos puntos de tiempo, administración con inyección intravenosa rápida e infusión pulsada. En algunos aspectos de la divulgación, la administración es subcutánea.

50 Los anticuerpos de la invención se formularán, dosificarán y administrarán de una forma consistente con las buenas prácticas médicas. Los factores que se deben tener en consideración en este contexto incluyen el trastorno particular que se trata, el mamífero particular que se trata, la afección clínica del paciente individual, la causa del trastorno, el sitio de administración del agente, el procedimiento de administración, la pauta de administración y otros factores conocidos por los médicos de cabecera. No es necesario, pero el anticuerpo se formula opcionalmente con uno o más agentes usados actualmente para prevenir o tratar el trastorno en cuestión. La cantidad eficaz de dichos otros agentes depende de la cantidad de anticuerpo presente en la formulación, del tipo de trastorno o tratamiento y de otros factores analizados anteriormente. Estos se usan, en general, en las mismas dosificaciones y por las vías de administración como se describe en el presente documento, o aproximadamente de un 1 a un 99 % de las dosificaciones descritas en el presente documento, o en cualquier dosificación y mediante cualquier vía que se determine empíricamente/clínicamente que sea apropiada.

65 Para la prevención o tratamiento de la enfermedad, la dosificación apropiada de un anticuerpo de la invención (cuando se usa solo o en combinación con uno o más de otros agentes terapéuticos adicionales) dependerá del tipo de enfermedad que se va a tratar, del tipo de anticuerpo, de la gravedad y la evolución de la enfermedad, ya sea si el anticuerpo se administra para propósitos preventivos o terapéuticos, del tratamiento previo, de la anamnesis del paciente y de la respuesta al anticuerpo y del criterio del médico especialista. El anticuerpo se administra

adecuadamente al paciente de una vez o durante una serie de tratamientos.

Como una proposición general, la cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo anti-CD79b (por ejemplo, un anticuerpo TDB anti-CD79b/CD3) administrada al ser humano estará en el intervalo de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal del paciente, ya sea mediante una o más administraciones. En algunos aspectos de la divulgación, el anticuerpo usado es de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 45 mg/kg, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 40 mg/kg, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 35 mg/kg, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 30 mg/kg, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 25 mg/kg, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 20 mg/kg, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 15 mg/kg, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10 mg/kg, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 5 mg/kg o de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 mg/kg administrado diariamente, por ejemplo. En un aspecto de la divulgación, un anticuerpo anti-CD79b (por ejemplo, un anticuerpo TDB anti-CD79b/CD3) descrito en el presente documento se administra a un ser humano a una dosis de aproximadamente 100 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 500 mg, aproximadamente 600 mg, aproximadamente 700 mg, aproximadamente 800 mg, aproximadamente 900 mg, aproximadamente 1000 mg, aproximadamente 1100 mg, aproximadamente 1200 mg, aproximadamente 1300 mg o aproximadamente 1400 mg el día 1 de los ciclos de 21 días. La dosis se puede administrar como una dosis única o como dosis múltiples (por ejemplo, 2 o 3 dosis), tal como infusiones. Para administraciones repetidas durante varios días o más, dependiendo de la afección, en general, se mantendría el tratamiento hasta que se produjera una supresión deseada de los síntomas de la enfermedad. Una dosificación ejemplar del anticuerpo estaría en el intervalo de aproximadamente 0,05 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg. Por tanto, se pueden administrar al paciente una o más dosis de aproximadamente 0,5 mg/kg, 2,0 mg/kg, 4,0 mg/kg o 10 mg/kg (o cualquier combinación de las mismas). Dichas dosis se pueden administrar intermitentemente, por ejemplo, cada semana o cada tres semanas (por ejemplo, de tal manera que el paciente reciba de aproximadamente dos a aproximadamente veinte o, por ejemplo, aproximadamente seis dosis del anticuerpo anti-CD79b (por ejemplo, el anticuerpo TDB anti-CD79b/CD3). Se puede administrar una dosis de carga inicial más alta, seguida de una o más dosis más bajas. La progresión de este tratamiento se supervisa fácilmente mediante técnicas y ensayos convencionales.

H. Artículos de fabricación

En otro aspecto de la invención, se proporciona un artículo de fabricación que contiene materiales útiles para el tratamiento, prevención y/o diagnóstico de los trastornos descritos anteriormente. El artículo de fabricación comprende un recipiente y una ficha técnica o prospecto del envase en o asociado con el recipiente. Los recipientes adecuados incluyen, por ejemplo, frascos, viales, jeringuillas, bolsas de solución i.v., etc. Los recipientes se pueden formar a partir de una variedad de materiales, tales como vidrio o plástico. El recipiente contiene una composición que es, por sí misma o combinada con otra composición, eficaz para tratar, prevenir y/o diagnosticar la afección y que puede tener un orificio de acceso estéril (por ejemplo, el recipiente puede ser una bolsa de solución intravenosa o un vial que tenga un tapón perforable mediante una aguja de inyección hipodérmica). Al menos un agente activo de la composición es un anticuerpo de la invención. La ficha técnica o prospecto del envase indica que la composición se usa para tratar la afección de elección. Además, el artículo de fabricación puede comprender (a) un primer recipiente con una composición contenida en el mismo, en el que la composición comprende un anticuerpo de la invención; y (b) un segundo recipiente con una composición contenida en el mismo, en el que la composición comprende un agente citotóxico o de otro modo terapéutico adicional. El artículo de fabricación en este aspecto de la divulgación de la invención puede comprender además un prospecto del envase que indique que las composiciones se pueden usar para tratar una afección particular. De forma alternativa, o adicionalmente, el artículo de fabricación puede comprender además un segundo (o tercer) recipiente que comprenda un tampón farmacéuticamente aceptable, tal como agua bacteriostática para inyectables (BWF1), solución salina tamponada con fosfato, solución de Ringer y solución de dextrosa. Puede incluir además otros materiales deseables desde un punto de vista comercial y del usuario, incluyendo otros tampones, diluyentes, filtros, agujas y jeringuillas.

Se entiende que cualquiera de los artículos de fabricación anteriores puede incluir un inmunocombinado de la invención en lugar de o además de un anticuerpo anti-CD79b.

III. EJEMPLOS

Los siguientes son ejemplos de procedimientos y composiciones de la invención. Se entiende que se pueden poner en práctica otros modos de realización diversos, dada la descripción general proporcionada anteriormente.

Ejemplo 1

Materiales y procedimientos

A. Generación de anticuerpos monoclonales

Se generó la proteína para la inmunización de los ratones mediante transfección transitoria de vectores que expresan el dominio extracelular (DEC) marcado con Fc o marcado con His de CD79b humana en células CHO. Las proteínas

se purificaron a partir de los sobrenadantes de células transfectadas en columnas de proteína A y la identidad de la proteína se confirmó mediante secuenciación N terminal. Se hiperinmunizaron diez ratones Balb/c (Charles River Laboratories, Hollister, Calif.) con DEC marcado con Fc o marcado con His recombinante de CD79b humana. Los linfocitos B de ratones que mostraron valores de anticuerpos altos frente al inmunógeno CD79b humano mediante ELISA directo y unión específica a células Ramos, se fusionaron con células de mieloma de ratón (X63.Ag8.653; American Type Culture Collection, Rockville, Md.) como se describe previamente (Hongo, J. S. *et al.*, *Hybridoma*, 14:253-260 (1995); Kohler, G. *et al.*, *Nature*, 256:495-497 (1975); Freund, Y. R. *et al.*, *J. Immunol.*, 129:2826-2830 (1982)). Después de 10 a 12 días, los sobrenadantes se obtuvieron y se cribaron para determinar la producción de anticuerpos y la unión mediante ELISA directo y FACS como se indica anteriormente. Los clones positivos, que mostraron la inmunounión más alta después de la segunda tanda de subclonación mediante dilución limitante, se expandieron y cultivaron para su caracterización adicional, incluyendo su especificidad por CD79b humana y reactividad cruzada. Los sobrenadantes obtenidos de cada linaje de hibridoma se purificaron mediante cromatografía de afinidad (cromatografía de líquidos rápida de proteínas (FPLC) de Pharmacia; Pharmacia, Uppsala, Suecia) como se describe previamente (Hongo, J. S. *et al.*, *Hybridoma*, 14:253-260 (1995); Kohler, G. *et al.*, *Nature*, 256:495-497 (1975); Freund, Y. R. *et al.*, *J. Immunol.*, 129:2826-2830 (1982)). A continuación, las preparaciones de anticuerpos purificados se filtraron de forma estéril (tamaño de poro de 0,2 μ m; Nalgene, Rochester N.Y.) y se almacenaron a 4 °C en solución salina tamponada con fosfato (PBS).

B. Generación de TDB

Los anticuerpos TDB se produjeron como anticuerpos de longitud completa en el formato botón en ojal como IgG1 humana, como se describe previamente (Atwell *et al.* *J. Mol Biol.* 270: 26-35, 1997). Los semianticuerpos se expresaron en células de *E. coli* o bien de ovario de hámster chino (CHO), se purificaron mediante cromatografía de afinidad con proteína A y los pares de semianticuerpos apropiados se hibridaron *in vitro* como se describe previamente (Spiess *et al. Nat. Biotechnol.* 2013). Si la producción del anticuerpo TDB se llevó a cabo en células CHO, el anticuerpo puede incluir una mutación de aglucosilación, por ejemplo, en el residuo N297 (por ejemplo, N297G), de tal manera que el anticuerpo TDB fuera una variante sin efector y que no pudiera iniciar la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC).

Después de su hibridación, los anticuerpos TDB anti-CD79b/CD3 se purificaron mediante cromatografía de interacción hidrófoba (HIC) y se caracterizaron por filtración analítica en gel, espectrometría de masas y electroforesis en gel de poliacrilamida. Los anticuerpos purificados aparecieron como un único pico (>99 % de la señal) en la filtración en gel con menos de un 0,2 % de agregados. No se detectaron homodímeros mediante espectrometría de masas.

C. Afinidad de unión

Se sometieron a prueba las afinidades de unión para cada uno de los TDB frente a CD3/CD79b mediante análisis con Biacore o FACS. En resumen, para los ensayos de unión con Biacore, se inmovilizó CD3 γ humano en una matriz de sensor CM5 de Biacore de la serie S usando el kit de acoplamiento de amina de Biacore y los anticuerpos TDB anti-CD79b/CD3 o variantes de Fab de los mismos estaban en el flujo pasante. Para los ensayos de unión con FACS, se incubaron células BJAB (para antígenos de linfocitos B) u otras líneas de células como se especifica con diversas concentraciones de anticuerpos TDB a 4 °C durante 30 minutos, a continuación, las células se lavaron e incubaron con el 2.º anticuerpo (anti-hulgG-PE; BD Bioscience) durante otros 15 minutos, antes de que las células se lavaran de nuevo y estuvieran listas para el análisis con FACS.

D. Ensayos de destrucción de linfocitos B y de activación de linfocitos T *in vitro*

Los anticuerpos TDB anti-CD79b/CD3 generados se sometieron a prueba para determinar su capacidad de mantener la destrucción de linfocitos B y la activación de linfocitos T citotóxicos. En estos ensayos, las PBMC se aislaron de sangre completa de donantes sanos mediante separación por Ficoll. En resumen, se extrajo sangre humana en jeringuillas heparinizadas y las PBMC se aislaron usando Leucosep (Greiner Bio-one, n.º de cat. 227290P) y Ficoll Paque Plus (GE Healthcare Biosciences, n.º de cat. 95038-168), como se recomienda por el fabricante. Si fue necesario, los linfocitos T CD4+ y T CD8+ se separaron con los kits de Miltenyi de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Las células se lavaron en medio RPMI que contenía FBS al 10 %, complementado con GlutaMax (Gibco, n.º de cat. 35050-061), penicilina y estreptomina (Gibco, n.º de cat. 15140-122), y se añadieron ~0,2 millones de células suspendidas a una placa de fondo en U de 96 pocillos. Las células se cultivaron en RPMI1640 complementado con FBS al 10 % (Sigma-Aldrich) a 37 °C en una estufa de incubación para cultivos de células estándar humidificada. Para los ensayos de destrucción de células BJAB, se incubaron 20.000 células BJAB con células efectoras como huPBMC o bien linfocitos T purificados según las proporciones indicadas por ensayo, en presencia de diversas concentraciones de anticuerpos TDB durante 24 horas, a menos que se especificara de otro modo. Para los ensayos de destrucción de linfocitos B endógenos, se incubaron 200.000 huPBMC con diversas concentraciones de anticuerpos TDB anti-CD79b/CD3 durante 24 horas, a menos que se especificara de otro modo.

Después de su cultivo, se lavaron las células con tampón para FACS (BSA al 0,5 %, acida de Na al 0,05 % en PBS).

A continuación, se tiñeron las células en tampón para FACS, se lavaron con tampón para FACS y se suspendieron en 100 ul de tampón para FACS que contenía 1 ug/ml de yoduro de propidio. Se obtuvieron los datos en un citómetro de flujo FACSCalibur y se analizaron usando FlowJo. Los linfocitos B vivos se seleccionaron como linfocitos B PI-CD19+ o PI-CD20+ mediante FACS, y se obtuvo un recuento de células absoluto con microesferas de FITC añadidas a la mezcla de reacción como control de recuento interno. El % de destrucción de las células se calculó en base a controles no tratados con TDB. Los linfocitos T activados se detectaron mediante expresión en la superficie de CD69 y CD25 usando anti-CD69-FITC (BD, n.º de cat. 555530) y anti-CD25-PE (BD, n.º de cat. 555432).

E. Eficacia *in vivo*

Se inocularon 50 ratones SCID.bg con 5 millones de células T1.1 X1 resistentes al modelo BJAB-luc anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE en HBSS por vía subcutánea en un volumen de 0,2 ml por ratón en el lado derecho torácico unilateral (sin exceder los 200 ul) o una mezcla de 5 millones de células T1.1 X1 resistentes al modelo BJAB-luc anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE y 10 millones de PBMC en HBSS en un volumen de 0,2 ml (sin exceder los 200 ul). Este fue un estudio preventivo, por lo que la inoculación y el tratamiento se administraron el día 0.

Hubo cinco grupos de estudio: 1) 5 millones de T1.1 X1 resistentes al modelo BJAB-luc anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE, vehículo, una vez cada dos semanas, i.v.; 2) 5 millones de T1.1 X1 resistentes al modelo BJAB-luc anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE, 0,5 mg/kg de TDB anti-CD79, dos veces cada semana, i.v.; 3) 5 millones de T1.1 X1 resistentes al modelo BJAB-luc anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE + 10×10^6 de PBMC (premezcladas), vehículo, dos veces cada semana, i.v.; 4) 5 millones de T1.1 X1 resistentes al modelo BJAB-luc anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE + 10×10^6 de PBMC (premezcladas), 0,5 mg/kg de TDB anti-CD79 (CD79b.A7.v 14b/38E4v1), dos veces cada semana, i.v.; y 5) 5 T1.1 X1 resistentes al modelo BJAB-luc anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE, 8 mg/kg de BJAB-luc anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE, una vez, i.v. Las PBMC se obtuvieron de un donante de capa leucocitaria, se cultivaron durante la noche en una condición no activante, se inocularon como una mezcla con las células BJAB. Todos los tratamientos se administraron i.v., en la vena de la cola, a un volumen = 0,1 ml (sin exceder los 200 ul). Se midieron los tumores 1-2 veces por semana. Se midieron los pesos corporales 1-2x/semana hasta los 14 días después del tratamiento final.

1. Selección del brazo para antígeno de TDB frente a CD79b anti-CD79b

Se han generado conjugados anticuerpo-fármaco (CAF) (tales como el anticuerpo anti-CD79b humanizado (SN8 humanizado) conjugado con monometilauristatina E (MMAE) mediante un conector escindible de proteasa), que han demostrado ser eficaces a nivel clínico para el tratamiento del LNH. Véanse, por ejemplo, la patente de EE. UU. n.º 8.088.378 y Morschhauser *et al.*, "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", 56.º congreso y presentación anuales de la ASH: 6-9 de diciembre de 2014.

En base al éxito clínico del CAF de anti-CD79b, el anticuerpo SN8 humanizado estaba en un formato de anticuerpo biespecífico dependiente de linfocitos T (TDB) para aprovechar la alta capacidad citotóxica de los linfocitos T en la eliminación de las células tumorales. Véase la patente de EE. UU. n.º 8.088.378. Se generó un botón y ojal (B y O) biespecífico anti-CD3 (por ejemplo, UCHT1.v9; véase, por ejemplo, Zhu *et al. Int. J. Cancer* 62:319-324 (1995))/anti-CD79b (por ejemplo, SN8.v28) como se describe anteriormente. Sin embargo, en el ensayo de destrucción de linfocitos B endógenos usando dos donantes diferentes como se describe anteriormente, se observó una escasa actividad de destrucción de linfocitos B para el B y O biespecífico UCHT1.v9/SN8.v28: la CE_{50} fue de 357 ng/ml y 120 ng/ml en el ensayo de destrucción de las células.

Se generó un segundo TDB anti-CD3 (por ejemplo, UCHT1.v9)/anti-CD79b usando 2F2 como el brazo del anticuerpo anti-CD79b. 2F2 se había mostrado *in vitro* como una promesa como un CAF de anti-CD79b. Véase, por ejemplo, el documento US20090068202. Además, se modificó el anticuerpo con brazo frente a CD79b SN8.v28 en un intento de mejorar la destrucción de las células (SN8.nuevo (SEQ ID NO:37 de VH y SEQ ID NO:38 de VL)). Como se muestra en la figura 1A (ensayo de destrucción de linfocitos B endógenos) y en la figura 1B (ensayo de destrucción de células BJAB), los anticuerpos en B y O biespecíficos SN8.v28/UCHT1.v9, los anticuerpos en B y O biespecíficos SN8.nuevo/UCHT1.v9, así como los anticuerpos en B y O biespecíficos 2F2/UCHT1.v9 dieron como resultado una escasa actividad de destrucción de linfocitos B.

Se generaron anticuerpos anti-CD79b monoclonales como se describe anteriormente. También se sometieron a prueba dos de estos anticuerpos anti-CD79b (CD79b.F6 y CD79b.A7) como anticuerpos anti-CD79b/CD3 en formato bisfab biespecífico. Como se muestra en la figura 1C, en un ensayo de destrucción de linfocitos B endógenos, el bisfab biespecífico CD79b.F6/UCHT1.v9 presentó una destrucción de linfocitos B mejorada en comparación con el B y O biespecífico SN8.v28/UCHT1.v9 (CE_{50} de 33 ng/ml en comparación con 189 ng/ml). Además, como se muestra en la figura 1C, en el ensayo de destrucción de linfocitos B endógenos, el bisfab biespecífico CD79b.A7/UHT1.v9 mejoró drásticamente la destrucción de linfocitos B en comparación con el bisfab biespecífico CD79b.F6/UCHT1.v9 o bien el B y O biespecífico SN8.v28/UCHT1.v9 (CE_{50} de 12 ng/ml en comparación con 33 ng/ml y 189 ng/ml). Se sometió a prueba adicionalmente el bisfab biespecífico CD79b.A7/UHT1.v9 para determinar la destrucción de linfocitos B endógenos y la activación de linfocitos T CD8+ usando donantes adicionales. Como se muestra en las figuras 2A y C, en el ensayo de destrucción de linfocitos B endógenos como se describe anteriormente, el bisfab biespecífico

CD79b.A7/UHT1.v9 que usa dos donantes diferentes dio como resultado una destrucción de linfocitos B eficaz con una CE_{50} de 7,0 ng/ml y 18 ng/ml, respectivamente. Al mismo tiempo, como se muestra en las figuras 2B y D, en el ensayo de activación de linfocitos T CD8+ como se describe anteriormente, el bisfab biespecífico CD79b.A7/UHT1.v9 dio como resultado una activación eficaz de linfocitos T como se demuestra mediante el % de linfocitos T CD69+CD25+ en linfocitos T CD8+ con una CE_{50} de 17 ng/ml y 17 ng/ml, respectivamente.

Para entender mejor la diferencia en la destrucción de linfocitos B y la activación de linfocitos T de los diferentes brazos para antígeno de anti-CD79b en los anticuerpos TDB anti-CD79b/CD3, se analizaron las propiedades de los diferentes brazos para antígeno de anti-CD79b. La unión de CD79b.A7 a células BJAB en un ensayo con FACS compitió por un péptido de 21 aminoácidos **ARSEDYRNPKGSACSRIWQS** (SEQ ID NO:63) que se corresponde con los extremos NH_2 de huCD79b, pero no el péptido de 21 aminoácidos **AKSEDLYPNPKGSACSRIWQS** (SEQ ID NO:64) que se corresponde con los extremos NH_2 de cynoCD79b (datos no mostrados). Esto es similar a los resultados de 2F2 y SN8 como se describe en Zheng *et al. Mol Cancer Ther.* 8(10):2937-2947 (2009). Por lo tanto, el epítipo en CD79b no parece explicar la diferencia en la destrucción de linfocitos B y la activación de linfocitos T entre SN8.v28/UCHT1.v9, 2F2/UCHT1.v9 y CD79.A7.

La afinidad de unión del anticuerpo anti-CD79b monovalente y bivalente también se evaluó para entender mejor la contribución, si hubiera, a la actividad de destrucción de linfocitos B. También se analizó la afinidad de unión de los anticuerpos anti-CD79b bivalentes con doble brazo y los anticuerpos anti-CD79b/CD3 biespecíficos usando células BJAB. Los experimentos iniciales indicaron que la afinidad de unión mediante CE_{50} en la célula BJAB del anticuerpo anti-CD79b bivalente con doble brazo SN8.v28 fue de 0,04 pg/ml, mientras que la afinidad de unión mediante CE_{50} en la célula BJAB del B y O biespecífico anti-CD79b/CD3 (SN8.v28/UCHT1.v9) fue solo de 3,7 μ g/ml. De forma similar, como se muestra en la figura 3A, la afinidad de unión mediante CE_{50} en la célula BJAB del anticuerpo anti-CD79b bivalente con doble brazo 2F2 fue significativamente más alta que el B y O biespecífico anti-CD79b/CD3 (SN8.v28/UCHT1.v9, SN8nuevo/UCHT1.v9 y 2F2/UCHT1.v9). Se sometió a prueba la afinidad de unión de los anticuerpos anti-CD79 adicionales, CD79b.F6 y CD79b.A7, en el formato de anticuerpo anti-CD79b bivalente con doble brazo, así como los anticuerpos anti-CD79b/CD3 biespecíficos en B y O y en bisfab. Como se muestra en la figura 3B, la afinidad de unión del anticuerpo anti-CD79b bivalente con doble brazo CD79.A7 mediante CE_{50} en la célula BJAB fue de 0,31 μ g/ml. La afinidad de unión mediante CE_{50} en la célula BJAB del bisfab biespecífico anti-CD79b/CD3 (CD79b.A7/UCHT1.v9) fue más baja que el anticuerpo anti-CD79b bivalente con doble brazo CD79.A7, pero todavía relativamente alta, de 1,4 μ g/ml. La afinidad de unión mediante CE_{50} en la célula BJAB del anticuerpo anti-CD79b bivalente con doble brazo CD79b.F6 y los anticuerpos anti-CD79b/CD3 biespecíficos en B y O y en bisfab (SN8.v28/UCHT1.v9 y CD79b.F6/UCHT1.v9, respectivamente) fue significativamente más baja. En base a estos datos, la afinidad de unión monovalente se correlacionó con el grado de disminución de linfocitos B endógenos y el % de destrucción de linfocitos B.

2. Humanización del brazo para antígeno de anti-CD79b

El anticuerpo monoclonal CD79b.A7 se humanizó como se describe anteriormente. Los números de los residuos son de acuerdo con Kabat *et al.*, Sequences of proteins of immunological interest, 5.^a ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991).

Las variantes construidas durante la humanización de CD79b.A7 se evaluaron en forma de una IgG. Los dominios VL y VH de CD79b.A7 murino se alinearon con las secuencias consenso del subgrupo I de VH (VH1) humano y VL kappa II (VLK2) humano. Se genomanipularon regiones hipervariables de los anticuerpos murinos en las regiones estructuralesceptoras de VLK2 y VH1. Específicamente, del dominio muCD79b.A7, se injertaron las posiciones 24-34 (L1), 50-56 (L2) y 89-97 (L3) en VLK2, y del dominio VH de muCD79b.A7, las posiciones 26-35 (H1), 50-65 (H2) y 93-102 (H3) en VH1.

La afinidad de unión de los anticuerpos en esta sección se determinó mediante BIAcore™ T100. En resumen, se activaron matrices CM5 de calidad para la investigación de BIAcore™ con reactivos de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) y N-hidroxisuccinimida (NHS) de acuerdo con las instrucciones del proveedor. La CD79a humana fusionada con un dominio Fc en el extremo C se acopló a las matrices. Para lograr más acontecimientos de unión monovalente, se inmovilizó a una densidad baja de ~12 unidades de respuesta (UR) en cada cubeta de lectura. Para medir la afinidad aparente de los anticuerpos, se inmovilizaron ~370 UR del antígeno. Los grupos de acoplamiento sin reaccionar se bloquearon con etanolamina 1 M. Para las mediciones cinéticas, se inyectaron diluciones en serie en tres veces de anticuerpo en tampón PBS-T (tensioactivo P20 al 0,05 % en PBS) a 25 °C con un caudal de 30 μ l/min. Se usó glicina 10 mM, pH 1,7, como tampón de regeneración a 30 μ l/min de caudal durante 1 minuto. Se calcularon las tasas de asociación (k_{aso}) y las tasas de disociación (k_{dis}) usando un modelo de unión 1:1 de Langmuir (programa informático de evaluación de BIAcore™ T100, versión 2.0). La constante de disociación en equilibrio (K_d) se calculó como la proporción k_{dis}/k_{aso} .

El injerto de CDR humanizada de CD79b.A7 (CD79b.A7.v1) no se unió a CD79b. Por tanto, se prepararon variantes humanizadas adicionales para evaluar la contribución de las posiciones de vernier de la región estructural de ratón

5 hacia la unión. Seis cadenas ligeras adicionales (VL1: injerto de CDR + (Y36L), VL2: injerto de CDR + (Y36L + L46C), VL3: injerto de CDR + (I2V + Y36L + L46C), VL4: injerto de CDR + (Y36L + L46S), VL5: injerto de CDR + (I2V + Y36L + L46S), VL6: injerto de CDR + (L46S)) y siete cadenas pesadas adicionales (VH1a: injerto de CDR + (A93S), VH1b: injerto de CDR + (R71V + A93S), VH1c: injerto de CDR + (V67A + I69L + R71V + A93S), VH1d: injerto de CDR + (V67A + I69L + R71V + T73K + A93S), VH1e: injerto de CDR + (V67A + R71V + A93S), VH1f: injerto de CDR + (I69L + R71V + A93S) y VH1g: injerto de CDR + (V67A + I69L)) se construyeron y combinaron para generar las variantes en la tabla 2. En base a las afinidades de estas variantes, Y36L y L46C en la cadena ligera parecen ser los residuos de vernier de ratón clave. De forma sorprendente, cuando la posición 46 se cambió a una serina para evitar el uso de una cisteína libre, la afinidad de las variantes mejoró drásticamente con este cambio. En la cadena pesada, V67A, I69L, R71V y A93S también contribuyeron a la unión a CD79b; sin embargo, R71V parecía ser los residuos de vernier de ratón clave en base a este análisis mutacional. Las afinidades en la tabla 2 son todas afinidades aparentes en base a la unión de IgG bivalente a CD79b inmovilizada a una densidad baja para aproximarse a la unión monovalente. Véase la tabla 2 a continuación.

15

Tabla 2

CD79b.A7 nM	Injerto de K2	VL1	VL2	VL3	VL4	VL5	VL6
Injerto de VH1	v1 Sin unión	v2 NDB	v3 320 nM				
VH1a	v4 NDB	v5 NDB	v6 3800 nM				
VH1b	v7 NDB	v8 NDB	v9 7050 nM		v27 8 nM		
VH1c	v10 NDB	v11 NDB	v12 20 nM	v13 716 nM	v14 5 nM	v15 5 nM	v26 23 nM
VH1d			v16 117 nM	v17 88 nM	v18 4 nM	v19 4 nM	
VH1e					v20 8 nM		v23 20 nM
VH1f					v21 8 nM		v24 39 nM
VH1g					v22 16 nM		v25 68 nM

5 Se sometió a prueba adicionalmente la afinidad de unión mediante análisis con FACS, las células BJAB se incubaron con diversos anticuerpos anti-CD79b durante 30 minutos en hielo. Al final de la incubación, se lavaron las células con tampón para FACS helado (1x PBS, BSA al 2 %, EDTA 2 mM), seguido de incubación con anticuerpo anti-IgG humana de ratón marcado con PE (BD bioscience n.º 555787). El análisis con citometría de flujo se realizó en un analizador BD LSR. La unión bivalente se expresó como la intensidad de fluorescencia media (IFM) del fluoróforo PE. La unión de chCD79b.A7, huCD79b.A7.v12 y huCD79b.A7.v14 a células BJAB-luciferasa fue a una CE₅₀ de 124 ng/ml, 400 ng/ml y 68 ng/ml, respectivamente.

15 La afinidad de unión del CD79.A7.v14 humanizado monovalente y bivalente se sometió a prueba como se describe anteriormente. Como se muestra en la figura 3C, el CD79.A7.v14 monovalente (en el CD79.A7.v14/40G5c en formato TDB en B y O) tenía una CE₅₀ de 220 ng/ml mientras que el CD79A7.v14 con doble brazo bivalente tenía una CE₅₀ de 46,8 ng/ml.

20 El anticuerpo humanizado CD79.A7.v14 se sometió a prueba bajo agresión térmica (40 °C, pH 5,5, 2 semanas) y análisis con clorhidrato de 2,2'-azobis(2-amidinopropano) (AAPH). Las muestras se sometieron a agresión térmica para imitar la estabilidad durante el tiempo de vida útil del producto. Las muestras se intercambiaron en tampón en acetato de His 20 mM, sacarosa 240 mM, pH 5,5, y se diluyeron a una concentración de 1 mg/ml. Se sometió a agresión un ml de muestra a 40 °C durante 2 semanas y se almacenó una segunda a -70 °C como control. A continuación, se digirieron ambas muestras usando tripsina para crear péptidos que se podían analizar usando análisis por cromatografía de líquidos (CL) - espectrometría de masas (EM). Para cada péptido en la muestra, se adquirieron los tiempos de retención a partir de la CL, así como información exacta con alta resolución sobre la fragmentación de iones de péptidos y masas (información de la secuencia de aminoácidos) en la EM. Se tomaron cromatogramas de iones extraídos (CIE) para los péptidos de interés (iones de péptidos naturales y modificados) a partir de los conjuntos de datos en un margen de +-10 ppm y se integraron los picos para determinar el área. Se calcularon los porcentajes de modificación relativos para cada muestra tomando (el área del péptido modificado) dividida entre (el área del péptido modificado más el área del péptido natural) multiplicado por 100.

30 Se demostró que W33 en CDR-H1 y M62 en CDR-H2 de CD79b.A7.v14 eran susceptibles a la oxidación (la oxidación de W33 se incrementó en un 73,7 % y la oxidación de M62 se incrementó en un 64,8 %). Se sometieron a prueba variantes de los anticuerpos CD79b.A7.v14 para determinar si la oxidación potencial se podría reducir sin afectar a la unión a huCD79b. La variante, CD79b.A7.v14b, eliminó estos problemas de oxidación potencial cambiando estas regiones para que coincidieran con el consenso de VH1 humano (W33Y, M62K, K64Q y D65G). Estos cambios no alteraron la afinidad por la unión a CD79b. Véanse los datos no mostrados.

3. Selección del brazo para antígeno de TDB frente a CD79b anti-CD3

40 Se analizó el efecto del apareamiento de dominios de unión a CD3 sobre la eficacia de la destrucción de linfocitos B en los anticuerpos TDB anti-CD79b. Se sometió a prueba el anticuerpo anti-CD79b.A7.v14 en combinación con diferentes dominios de unión a anticuerpo anti-CD3, incluyendo 40G5c y 38E4v1. Se incubaron 200.000 PBMC con o sin anticuerpo TDB anti-CD79b/CD3 durante 48 horas. El porcentaje de destrucción de linfocitos B en la figura 5A se calculó como sigue: (número de linfocitos B vivos sin TDB - número de linfocitos B vivos con TDB) / (número de linfocitos B vivos sin TDB) * 100. La activación de linfocitos T como se muestra en la figura 5B se midió mediante selección en células CD69⁺/CD25⁺ en la población de linfocitos T CD8⁺. Como se muestra en la figura 5A y B, el B y

O CD79b.A7.v14/40G5c mostró una escasa activación de linfocitos T CD8+ y un porcentaje bajo de destrucción de linfocitos B endógenos. En experimentos adicionales (datos no mostrados), el anticuerpo TDB anti-CD79b/CD3 (B y O CD79b.A7.v14/40G5c) mostró una CE₅₀ de 1,1 y 2,3 ng/ml para la activación de linfocitos T CD8+ y una CE₅₀ de 2658 y 288 ng/ml para la destrucción de linfocitos B endógenos usando dos donantes diferentes. Por el contrario, como se muestra en la figura 5A y B, el anticuerpo TDB anti-CD79b/CD3 (B y O CD79b.A7.v14/38E4v1) mostró una activación de linfocitos T CD8+ y un porcentaje de destrucción de linfocitos B endógenos sustancialmente mejorados, una CE₅₀ de 15 ng/ml para la destrucción de linfocitos B endógenos en comparación con el B y O CD79b.A7.v14/40G5c. En experimentos adicionales (datos no mostrados), el anticuerpo TDB anti-CD79b/CD3 (B y O CD79b.A7.v14/40G5c) mostró una CE₅₀ de 401, 14, 1,5, 10, 12 y 16 ng/ml para la destrucción de linfocitos B endógenos usando seis donantes diferentes.

También se sometieron a prueba la actividad de destrucción de linfocitos B y de activación de linfocitos T del anticuerpo TDB anti-CD79b/CD3 (B y O CD79b.A7.v14/40G5c) en líneas de células BJAB y WSU-DLCL2 como se describe anteriormente y en la leyenda de la figura 6. Como se muestra en la figura 6A y B, el anticuerpo TDB anti-CD79b/CD3 (B y O CD79b.A7.v14/40G5c) mostró una activación de linfocitos T CD8+ y un porcentaje de destrucción de linfocitos B significativos, una CE₅₀ de 85 ng/ml para la destrucción de linfocitos B en BJAB y 82 ng/ml para la destrucción de linfocitos B en WSU-DLCL2. La CE₅₀ para la activación de linfocitos T CD8+ con linfocitos B en BJAB y WSU-DLCL2 fue de 18 y 39 ng/ml, respectivamente.

Se sometió a prueba la actividad de destrucción de linfocitos B del anticuerpo TDB anti-CD79b/CD3 (B y O CD79b.A7.v14b/40G5c) en diversas líneas de células como se describe en la figura 7A-B. La línea de células HT es una célula que no expresa CD79b. El porcentaje de destrucción de linfocitos B se calculó como sigue: (número de linfocitos B vivos sin TDB - número de linfocitos B vivos con TDB) / (número de linfocitos B vivos sin TDB) * 100. Como se muestra en la figura 7A, en una curva de respuesta a la dosis de la destrucción de linfocitos B para las células BJAB, WSU-DLCL2 y OCI-LY-19, la CE₅₀ de 8,87, 2,63 y 17,41 ng/ml para la destrucción de linfocitos B en OCI-Ly-19, BJAB y WSU-DLCL2 B, respectivamente. La figura 7B muestra una destrucción de linfocitos B significativa con 5000 ng/ml de anticuerpo TDB anti-CD79/CD3 (B y O CD79b.A7.v14b/38E4v1) en múltiples líneas de células (por duplicado, promedio ± DE).

Las eficacias variadas de los anticuerpos TDB generados biespecíficos para CD3 y CD79b subrayan las contribuciones críticas e impredecibles de ambos brazos del anticuerpo en la generación de un TDB ejemplar que posea una eficacia alta.

4. Eficacia in vitro e in vivo en linfocitos B resistentes a anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE

También se sometió a prueba la actividad de destrucción de linfocitos B de los anticuerpos TDB anti-CD79b/CD3 (CD79b.A7.v14b/38E4v1) *in vitro* e *in vivo* en linfocitos B resistentes a anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE. Las variantes de células BJAB (BJAB-CD79b ADC-R T1.1 y BJAB-SN8v28vcE CD79b ADC-R T1.2) se derivaron de tumores de xenoinjertos de BJAB no sensibles en ratones tratados con linfocitos B resistentes a anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE. Como se muestra en la figura 8A, el TDB anti-CD79b/CD3 (CD79b.A7.v14b/38E4v1) fue muy eficaz en BJAB, así como en la destrucción de las células BJAB resistentes a anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE *in vitro*. Además, como se muestra en la figura 8B, el anticuerpo TDB anti-CD79b/CD3 (CD79b.A7.v14b/38E4v1) previene el crecimiento de tumores de BJAB resistentes a anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE *in vivo*.

Aunque la invención anterior se ha descrito con algo de detalle a modo de ilustración y ejemplo para los propósitos de claridad de comprensión, no se deben interpretar las descripciones y ejemplos como limitantes del alcance de la invención.

NOMBRE	SECUENCIA	SEQ ID NO
Precursor de CD79b humana; n.º de acc. NP_000617.1; secuencia señal = aminoácidos de 1 a 28	RFIARKRGFT VKMH CYMNSA SGNVSWLWKQ EMDENPQQLK LEKGRMEESQ NESLATLTIQ GIRFEDNGIY FCQQKCNNTS EVYQGCGETEL RVMGFSTLAQ LKQRNTLKD G IIMIQTLLII LFIIVPIFLL LDKDDSKAGM EEDHTYEGLD IDQTATYEDI VTLRTGEVKW SVGEHPGQE	1

ES 2 744 540 T3

NOMBRE	SECUENCIA	SEQ ID NO
CD79b madura humana, sin secuencia señal; aminoácidos de 29 a 229	AR SEDRYRNPKG SACSRIWQSP RFIARKRGFT VKMH CYMNSA SGNVSWLWKQ EMDENPQQLK LEKGRMEESQ NESLATLTIQ GIRFEDNGIY FCQQKCNNTS EVYQGCSTEL RVMGFSTLAQ LKQRNTLKDG IIMIQTLLII LFIIVPIFLL LDKDDSKAGM EEDHTYEGLD IDQTATYEDI VTLRTGEVKW SVGEHPGQE	2
HVR-H1 de CD79b.A7, CD79b.A7.v14 CD79b.A7.v15 CD79b.A7.v18 CD79b.A7.v19 CD79b.A7.v20 CD79b.A7.v21	TYWMN	3
HVR-H1 de CD79b.A7.v14b	TYYMN	4
HVR-H1 consenso	TYX ₁ MN, en la que X ₁ es W o Y	5
HVR-H2 de CD79b.A7, CD79b.A7.v14 CD79b.A7.v15 CD79b.A7.v18 CD79b.A7.v19 CD79b.A7.v20 CD79b.A7.v21	MIDPSDSETHYNQMFKD	6
HVR-H2 de CD79b.A7.v14b	MIDPSDSETHYNQKFQG	7
HVR-H2 consenso	MIDPSDSETHYNQX ₂ FX ₃ X ₄ , en la que X ₂ es M o K, X ₃ es K o Q, y X ₄ es D o G.	8
HVR-H3 de CD79b.A7, CD79b.A7.v14 CD79b.A7.v14b CD79b.A7.v15 CD79b.A7.v18 CD79b.A7.v19 CD79b.A7.v20 CD79b.A7.v21	SLAF	9
HVR-L1 de CD79b.A7, CD79b.A7.v14 CD79b.A7.v14b CD79b.A7.v15 CD79b.A7.v18 CD79b.A7.v19 CD79b.A7.v20 CD79b.A7.v21	KSSQSLLDSDGKTYLN	10
HVR-L2 de CD79b.A7, CD79b.A7.v14 CD79b.A7.v14b CD79b.A7.v15 CD79b.A7.v18 CD79b.A7.v19 CD79b.A7.v20 CD79b.A7.v21	LVSKLDS	11

NOMBRE	SECUENCIA	SEQ ID NO
HVR-L3 de CD79b.A7, CD79b.A7.v14 CD79b.A7.v14b CD79b.A7.v15 CD79b.A7.v18 CD79b.A7.v19 CD79b.A7.v20 CD79b.A7.v21	WQGTTHFPQT	12
K2H1 Región variable de la cadena pesada (V _H)	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTSYIHWVR QAPGQGLEWIGWINPGSGNTNYAQKFQGRVTITRDTSTS TAYLELSSLRSEDTAVYYCARFDYWGQGLVTVSS	13
K2H1 Región variable de la cadena ligera (V _L)	DIVMTQTPLSLPVTTPGQPASISCRSSQSLHSSGNTYLDWY LQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSDFTLKISR VEAEDVGVYYCQQAIQFPFTFGQGTKVEIK	14
V _H de CD79b.A7	QVQLQQPGVELVRPGASVKLSCKASGYTFTTYWMNWV RQRPGQGLDWIGMIDPSDSETHYNQMFKDKATLTVDKSS STAYIQLNSLTSEDSAVYYCSRSLAFWGQGLVTVSA	15
V _L de CD79b.A7	DVVMQTPTLTLSTVIGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNW LLQKPGQSPKCLIYLVSKLDSGVPDRFTGSGSGTDFTLKIS RVEAEDLGVYYCWQGTTHFPQTFGGGKLEIK	16
V _H de CD79b.A7.v14	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTTYWMNWV RQAPGQGLEWIGMIDPSDSETHYNQMFKDRATLTVDTST STAYLELSSLRSEDTAVYYCSRSLAFWGQGLVTVSS	17
V _L de CD79b.A7.v14	DIVMTQTPLSLPVTTPGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNW LLQKPGQSPQSLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSDFTLKIS RVEAEDVGVYYCWQGTTHFPQTFGQGTKVEIK	18
V _H de CD79b.A7.v14b	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTTYWMNWVR QAPGQGLEWIGMIDPSDSETHYNQKFQGRATLTVDTSTS TAYLELSSLRSEDTAVYYCSRSLAFWGQGLVTVSS	19
V _L de CD79b.A7.v14b	DIVMTQTPLSLPVTTPGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNW LLQKPGQSPQSLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSDFTLKIS RVEAEDVGVYYCWQGTTHFPQTFGQGTKVEIK	20
V _H de CD79b.A7.v15	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTTYWMNWV RQAPGQGLEWIGMIDPSDSETHYNQMFKDRATLTVDTST STAYLELSSLRSEDTAVYYCSRSLAFWGQGLVTVSS	21
V _L de CD79b.A7.v15	DVVMQTPTLTLSTVIGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNW LLQKPGQSPQSLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSDFTLKIS RVEAEDVGVYYCWQGTTHFPQTFGQGTKVEIK	22
V _H de CD79b.A7.v18	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTTYWMNWV RQAPGQGLEWIGMIDPSDSETHYNQMFKDRATLTVDKST STAYLELSSLRSEDTAVYYCSRSLAFWGQGLVTVSS	23
V _L de CD79b.A7.v18	DIVMTQTPTLTLSTVIGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNW LLQKPGQSPQSLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSDFTLKIS RVEAEDVGVYYCWQGTTHFPQTFGQGTKVEIK	24

ES 2 744 540 T3

NOMBRE	SECUENCIA	SEQ ID NO
V _H de CD79b.A7.v19	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTTYWMNWW RQAPGQGLEWIGMIDPSDSETHYNQMFKDRATLTVDKST STAYLELSSLRSEDTA VYYCSRSLAFWGQGLTVTVSS	25
V _L de CD79b.A7.v19	DVVM TQTPLSLPVT PGQPASISCKSSQSLLSDGKTYLNW LLQKPGQSPQSLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RVEAEDVGVYYCWQGT HFPQTFGQGTKVEIK	26
V _H de CD79b.A7.v20	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTTYWMNWW RQAPGQGLEWIGMIDPSDSETHYNQMFKDRATITVDTSTS TAYLELSSLRSEDTA VYYCSRSLAFWGQGLTVTVSS	27
V _L de CD79b.A7.v20	DIVMTQTPLSLPVT PGQPASISCKSSQSLLSDGKTYLNW LLQKPGQSPQSLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RVEAEDVGVYYCWQGT HFPQTFGQGTKVEIK	28
V _H de CD79b.A7.v21	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTTYWMNWW RQAPGQGLEWIGMIDPSDSETHYNQMFKDRVTLTVDTST STAYLELSSLRSEDTA VYYCSRSLAFWGQGLTVTVSS	29
V _L de CD79b.A7.v21	DIVMTQTPLSLPVT PGQPASISCKSSQSLLSDGKTYLNW LLQKPGQSPQSLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RVEAEDVGVYYCWQGT HFPQTFGQGTKVEIK	30
HVR-H1 de SN8.nuevo	SYWIE	31
HVR-H2 de SN8.nuevo	EILPGGGDTNYNEIFKG	32
HVR-H3 de SN8.nuevo	RVPIRLDY	33
HVR-L1 de SN8.nuevo	KASQSDYDGD SFLN	34
HVR-L2 de SN8.nuevo	AARKLGR	35
HVR-L3 de SN8.nuevo	QSNEDPLT	36
V _H de SN8.nuevo	EVQLVESGGGLVQP GGSRLRSCAASGYTFSSYWIEWVRQ APGKGLEWVGEILPGGGDTNYNEIFKGRFTISADTSKNTA YLQMNSLRAEDTA VYYCTRRVPIRLDYWGQGLTVTVSS	37
V _L de SN8.nuevo	DIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCKASQSDYDGD SFLNW YQQKPGKAPKLLIYAARKLGRGVP SRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQSNEDPLTFGQGTKVEIK	38
HVR-H1 de 40G5c	NYYIH	39
HVR-H2 de 40G5c	WYTPGDGNTKYNEKFKG	40
HVR-H3 de 40G5c	DSYSNYYFDY	41
HVR-L1 de 40G5c	KSSQSLLNSRTRKNYLA	42
HVR-L2 de 40G5c	WASTRES	43
HVR-L3 de 40G5c	TQSFILRT	44

ES 2 744 540 T3

NOMBRE	SECUENCIA	SEQ ID NO
HVR-H1 de 38E4v1	SYIIH	45
HVR-H2 de 38E4v1	WIYPENDNTKYNEKFKD	46
HVR-H3 de 38E4v1	DGYSRYFDY	47
HVR-L1 de 38E4v1	KSSQSLLSRTRKNYLA	48
HVR-L2 de 38E4v1	WTSTRKS	49
HVR-L3 de 38E4v1	KQSFILRT	50
HVR-H1 de UCHT1v9	GYTMN	51
HVR-H2 de UCHT1v9	LINPYKGVSTYNQKFKD	52
HVR-H3 de UCHT1v9	SGYYGSDWYFDV	53
HVR-L1 de UCHT1v9	RASQDIRNYLN	54
HVR-L2 de UCHT1v9	YTSRLES	55
HVR-L3 de UCHT1v9	QQGNTLPWT	56
V _H de 40G5c	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTNYYIIHWVR QAPGQGLEWIGWIYPGDGNTKYNEKFKGRATLTADTSTS TAYLELSSLRSEDTAVYYCARDSSNYFDYWGQGLVT VSS	57
V _L de 40G5c	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLSRTRKNYLA WYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTL TISSLQAEDVAVYYCTQSFILRTFGQGTKVEIK	58
V _H de 38E4v1	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGFTFTSYIIHWVRQ APGQGLEWIGWIYPENDNTKYNEKFKDRVTITADTSTST AYLELSSLRSEDTAVYYCARDGYSRYFDYWGQGLVT VSS	59
V _L de 38E4v1	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLSRTRKNYLA WYQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTL TISSLQAEDVAVYYCKQSFILRTFGQGTKVEIK	60
V _H de UCHT1v9	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVR QAPGKDLWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDKSKN TAYLQMNSLRSEDTAVYYCARSGYYGSDWYFDVWGQ GTLVTVSS	61
V _L de UCHT1v9	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDIRNYLNWYQQK GKAPKLLIYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPE DFATYYCQQGNTLPWTFGQGTKLELK	62
Péptido 1	ARSEDYRNPKGSAACSRIWQS	63
Péptido 2	AKSEDLYPNPKGSAACSRIWQS	64

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> GENENTECH, INC. *ET AL.*

5 <120> ANTICUERPOS ANTI-CD79B Y PROCEDIMIENTOS DE USO

<130> P32464-WO

<140>

10 <141>

<150> 62/088.487

<151> 05-12-2014

15 <160> 64

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

20 <211> 179

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<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

25

ES 2 744 540 T3

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> Homo sapiens

5

<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

10

<210> 3
 <211> 5
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"
 10
 <400> 3
Thr Tyr Trp Met Asn
1 5

 <210> 4
 15 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 20 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

 <400> 4
Thr Tyr Tyr Met Asn
1 5
 25
 <210> 5
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"
 35
 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> (3)..(3)
 <223> /reemplazar="Tyr"
 40
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(5)
 <223> /nota="El residuo variante dado en la secuencia no tiene ninguna preferencia con respecto al de las anotaciones para la posición variante"
 45
 <400> 5
Thr Tyr Trp Met Asn
1 5

 <210> 6
 50 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 55 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

 <400> 6

ES 2 744 540 T3

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

Asp

5 <210> 7
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 10 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

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

Gly

15 <210> 8
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"
 25 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> (14)..(14)
 <223> /reemplazar="Lys"
 30 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> (16)..(16)
 <223> /reemplazar="Gln"
 35 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> (17)..(17)
 <223> /reemplazar="Gly"
 40 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(17)
 <223> /nota="Los residuos variantes dados en la secuencia no tienen ninguna preferencia con respecto a los de las anotaciones para las posiciones variantes"

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

Asp

50 <210> 9
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>

ES 2 744 540 T3

<221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 9
Ser Leu Ala Phe
 1

5

<210> 10
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

15

<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> Secuencia artificial

20

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

25

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

30

<210> 12
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

40

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

<210> 13
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

50

<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

55

ES 2 744 540 T3

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

5 <210> 14
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<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

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

15 <210> 15
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <221> fuente

ES 2 744 540 T3

<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<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

5 Ala

<210> 16

<211> 112

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

15

<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

ES 2 744 540 T3

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

5 <210> 17
<211> 113
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>

10 <221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<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

15 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

20 <210> 18
<211> 112
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
25 <221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<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

- 5 <210> 19
- <211> 113
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

- 10 <220>
- <221> fuente
- <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<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

- 15 Ser
- <210> 20
- <211> 112
- <212> PRT

ES 2 744 540 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

5

<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<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

10

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

15

<211> 113

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

20

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<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

25

ES 2 744 540 T3

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

5 <210> 22
<211> 112
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<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

15 <210> 23
<211> 113
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

25 <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

ES 2 744 540 T3

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

5

Ser

<210> 24
 <211> 112
 <212> PRT

10

<213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

15

<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

20

<210> 25
 <211> 113
 <212> PRT

ES 2 744 540 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

5 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<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

10 <210> 26

<211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<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

20 Pro Gln Ser Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro

ES 2 744 540 T3

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
5 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
10 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<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

15 <210> 28
<211> 112
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

ES 2 744 540 T3

<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

5 <211> 113

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <221> fuente

<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<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

15

ES 2 744 540 T3

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
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

<220>

- <221> fuente
- 10 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<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

- 15 <210> 31
- <211> 5
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

<220>

- <221> fuente
- 20 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 31

Ser Tyr Trp Ile Glu
1 5

- <210> 32
- <211> 17
- <212> PRT
- 30 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"
 5
 <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> Secuencia artificial
 10
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"
 15
 <400> 33
Arg Val Pro Ile Arg Leu Asp Tyr
1 5

<210> 34
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 25
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"
 30
 <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> Secuencia artificial
 35
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"
 40
 <400> 35
Ala Ala Arg Lys Leu Gly Arg
1 5

<210> 36
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 45
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"
 50
 <400> 36
Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Leu Thr
1 5

<210> 37

ES 2 744 540 T3

<211> 117
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<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

10
 15 <210> 38
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

20 <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

ES 2 744 540 T3

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
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- <221> fuente
- 10 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 39
 Asn Tyr Tyr Ile His
 1 5

- 15 <210> 40
- <211> 17
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- 20 <220>
- <221> fuente
- <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

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

- 25 Gly
- <210> 41
- <211> 10
- <212> PRT
- 30 <213> Secuencia artificial
- <220>
- <221> fuente
- <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"
- 35 <400> 41

Asp Ser Tyr Ser Asn Tyr Tyr Phe Asp Tyr
 1 5 10

- 40 <210> 42
- <211> 17
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 45 <221> fuente

<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 42

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Ala

5

<210> 43
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

15

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

<210> 44
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

25

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

<210> 45
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

30

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

35

<400> 45
Ser Tyr Tyr Ile His
1 5

<210> 46
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

40

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

45

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

50

Asp

<210> 47

<211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

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

10

<210> 48
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

20

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

Ala

25

<210> 49
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

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

35

<210> 50
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

45

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

<210> 51
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

55

<400> 51
Gly Tyr Thr Met Asn
 1 5

<210> 52
 <211> 17
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"
 10
 <400> 52
Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15

Asp
 15 <210> 53
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 20 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

 <400> 53
Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10
 25
 <210> 54
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"
 35 <400> 54
Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

 40 <210> 55
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 45 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

 <400> 55
Tyr Thr Ser Arg Leu Glu Ser
1 5
 50 <210> 56
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 55 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

 <400> 56

Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr
 1 5

- <210> 57
- <211> 119
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

- <220>
- <221> fuente
- 10 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<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

- 15 <210> 58
- <211> 112
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

- <220>
- <221> fuente
- 20 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 58

ES 2 744 540 T3

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
5 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
10 <221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<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

15

ES 2 744 540 T3

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
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

- <220>
- <221> fuente
- 10 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<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

- 15 <210> 61
- <211> 122
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

- <220>
- <221> fuente
- 20 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 61

ES 2 744 540 T3

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
5 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
10 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<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

15

ES 2 744 540 T3

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

5 <210> 63
<211> 21
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<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

15 <210> 64
<211> 21
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 64
Ala Lys Ser Glu Asp Leu Tyr Pro Asn Pro Lys Gly Ser Ala Cys Ser
1 5 10 15

25 Arg Ile Trp Gln Ser
20

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un anticuerpo anti-CD79b aislado, en el que el anticuerpo comprende un dominio de unión a CD79b que comprende las siguientes seis regiones hipervariables (HVR):
- (a) una HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5;
- 10 (b) una HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8;
- (c) una HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9;
- (d) una HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10;
- 15 (e) una HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11; y
- (f) una HVR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12.
- 20 2. El anticuerpo anti-CD79b de la reivindicación 1, en el que el dominio de unión a CD79b comprende las siguientes seis HVR:
- (a) una HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3;
- 25 (b) una HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6;
- (c) una HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9;
- (d) una HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10;
- 30 (e) una HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11; y
- (f) una HVR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12.
- o, en el que el dominio de unión a CD79b comprende las siguientes seis HVR:
- 35 (a) una HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4;
- (b) una HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7;
- 40 (c) una HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9;
- (d) una HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10;
- 45 (e) una HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11; y
- (f) una HVR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12.
- 50 3. El anticuerpo anti-CD79b de una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, que comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 17, 21, 23, 25, 27 o 29.
- 55 4. El anticuerpo anti-CD79b de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, que comprende una secuencia de VL de SEQ ID NO: 18, 22, 24, 26, 28 o 30.
5. El anticuerpo anti-CD79b de una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, que comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 19.
6. El anticuerpo anti-CD79b de una cualquiera de las reivindicaciones 1-2 o 5, que comprende una secuencia de VL de SEQ ID NO: 20.
- 60 7. El anticuerpo anti-CD79b de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que el dominio de unión a CD79b se une a CD79b humana con una Kd de menos de aproximadamente 25 nM como un anticuerpo IgG bivalente con doble brazo, de menos de aproximadamente cualquiera de 10 nM o 5 nM.
- 65 8. El anticuerpo anti-CD79b de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que el anticuerpo anti-CD79b es un anticuerpo monoclonal, humanizado, quimérico, o fragmento de anticuerpo que se une a CD79b.

9. El anticuerpo anti-CD79b de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que el anticuerpo anti-CD79b comprende una mutación del sitio de aglucosilación.
- 5 10. El anticuerpo anti-CD79b de una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en el que el anticuerpo anti-CD79b comprende una función efectora reducida.
- 10 11. El anticuerpo anti-CD79b de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en el que el anticuerpo anti-CD79b comprende una mutación por sustitución en el residuo de aminoácido N297, L234, L235 y/o D265 de acuerdo con la numeración EU.
12. El anticuerpo anti-CD79b de la reivindicación 11, en el que la mutación por sustitución se selecciona del grupo que consiste en N297G, N297A, L234A, L235A y D265A de acuerdo con la numeración EU.
- 15 13. El anticuerpo anti-CD79b de la reivindicación 11, en el que el anticuerpo comprende una mutación por sustitución N297G en el residuo de aminoácido 297 de acuerdo con la numeración EU.
14. El anticuerpo anti-CD79b de una cualquiera de las reivindicaciones 1-13, en el que el anticuerpo anti-CD79b es un anticuerpo multiespecífico o biespecífico.
- 20 15. El anticuerpo anti-CD79b de la reivindicación 14, en el que el anticuerpo multiespecífico o biespecífico comprende un dominio de unión a CD3.
16. El anticuerpo anti-CD79b de la reivindicación 15, en el que el dominio de unión a CD3 comprende las siguientes seis HVR:
- 25 (a) una HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:45;
- (b) una HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46;
- 30 (c) una HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47;
- (d) una HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48;
- 35 (e) una HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49; y
- (f) una HVR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50.
17. El anticuerpo anti-CD79b de una cualquiera de las reivindicaciones 15 o 16, en el que el dominio de unión a CD3 comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO:59.
- 40 18. El anticuerpo anti-CD79b de una cualquiera de las reivindicaciones 15-17, en el que el dominio de unión a CD3 comprende una secuencia de VL de SEQ ID NO:60.
19. El anticuerpo anti-CD79b de una cualquiera de las reivindicaciones 15, en el que el dominio de unión a CD3 comprende las siguientes seis HVR:
- 45 (a) una HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:39;
- (b) una HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:40;
- 50 (c) una HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:41;
- (d) una HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:42;
- 55 (e) una HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:43; y
- (f) una HVR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44.
20. El anticuerpo anti-CD79b de una cualquiera de las reivindicaciones 15 o 19, en el que el dominio de unión a CD3 comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO:57.
- 60 21. El anticuerpo anti-CD79b de una cualquiera de las reivindicaciones 15 o 19-20, en el que el dominio de unión a CD3 comprende una secuencia de VL de SEQ ID NO:58.
- 65 22. El anticuerpo anti-CD79b de la reivindicación 15, en el que el dominio de unión a CD3 comprende las siguientes seis HVR:

- 5
- (a) una HVR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51;
- (b) una HVR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52;
- (c) una HVR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53;
- (d) una HVR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54;
- 10 (e) una HVR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 55; y
- (f) una HVR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:56.
23. El anticuerpo anti-CD79b de una cualquiera de las reivindicaciones 15 o 22, en el que el dominio de unión a CD3 comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO:61.
- 15 24. El anticuerpo anti-CD79b de una cualquiera de las reivindicaciones 15 o 22-23, en el que el dominio de unión a CD3 comprende una secuencia de VL de SEQ ID NO:62.
- 20 25. El anticuerpo anti-CD79b de una cualquiera de las reivindicaciones 15-24, en el que (a) el dominio de unión a CD3 comprende un dominio Fc, en el que el dominio Fc comprende las mutaciones por sustitución T366S, L368A, Y407V y N297G de acuerdo con la numeración EU y (b) el dominio de unión a CD79b comprende un dominio Fc, en el que el dominio Fc comprende las mutaciones por sustitución T366W y N297G de acuerdo con la numeración EU.
- 25 26. Un ácido nucleico aislado que codifica el anticuerpo anti-CD79b de una cualquiera de las reivindicaciones 1-25.
27. Un vector que comprende el ácido nucleico aislado de la reivindicación 26.
- 30 28. Una célula huésped que comprende el vector de la reivindicación 27.
29. Un inmunocombinado que comprende el anticuerpo anti-CD79b de una cualquiera de las reivindicaciones 1-25 y un agente citotóxico.
- 35 30. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo anti-CD79b de una cualquiera de las reivindicaciones 1-25.
- 40 31. El anticuerpo anti-CD79b de una cualquiera de las reivindicaciones 1-25 para su uso en el tratamiento o retraso de la progresión de un trastorno proliferativo de linfocitos B o un trastorno autoinmunitario en un sujeto que lo necesite.
- 45 32. El anticuerpo anti-CD79b para su uso de acuerdo con la reivindicación 31, en el que el trastorno proliferativo de linfocitos B es linfoma, linfoma no hodgkiniano (LNH), LNH de gran malignidad, LNH recidivante de gran malignidad, LNH recidivante de escasa malignidad, LNH insensible al tratamiento, LNH de escasa malignidad insensible al tratamiento, leucemia linfocítica crónica (LLC), linfoma linfocítico pequeño, leucemia, tricoleucemia (TL), leucemia linfocítica aguda (LLA) y/o linfoma de células del manto.
- 50 33. El anticuerpo anti-CD79b de una cualquiera de las reivindicaciones 1-25, para su uso en el tratamiento o retraso de la progresión de un trastorno proliferativo de linfocitos B o un trastorno autoinmunitario que comprende además administrar al sujeto un antagonista de unión al eje de PD-1 o un agente terapéutico adicional, y/o un glucocorticoide, y/o rituximab.

Figura 1

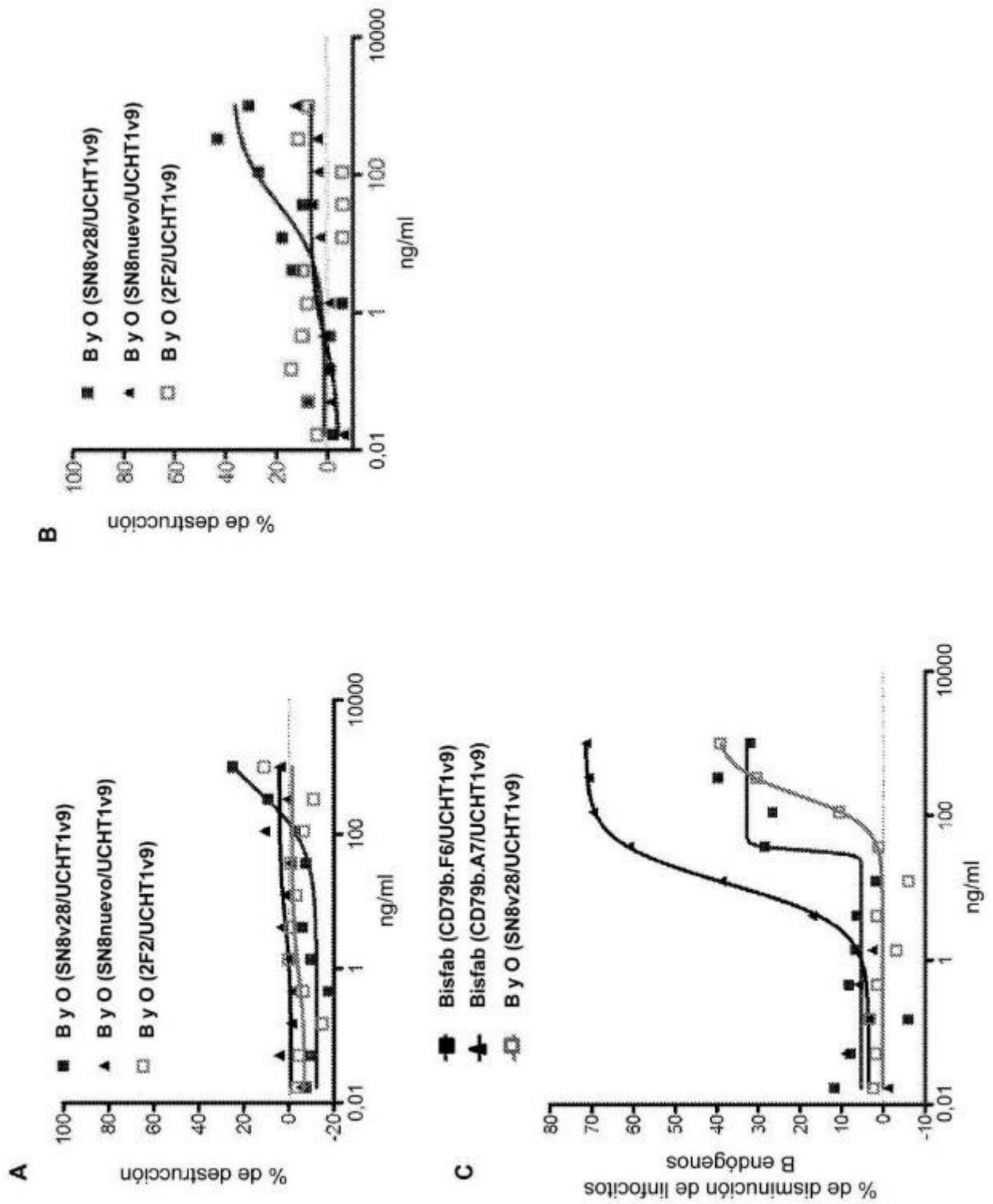


Figura 2

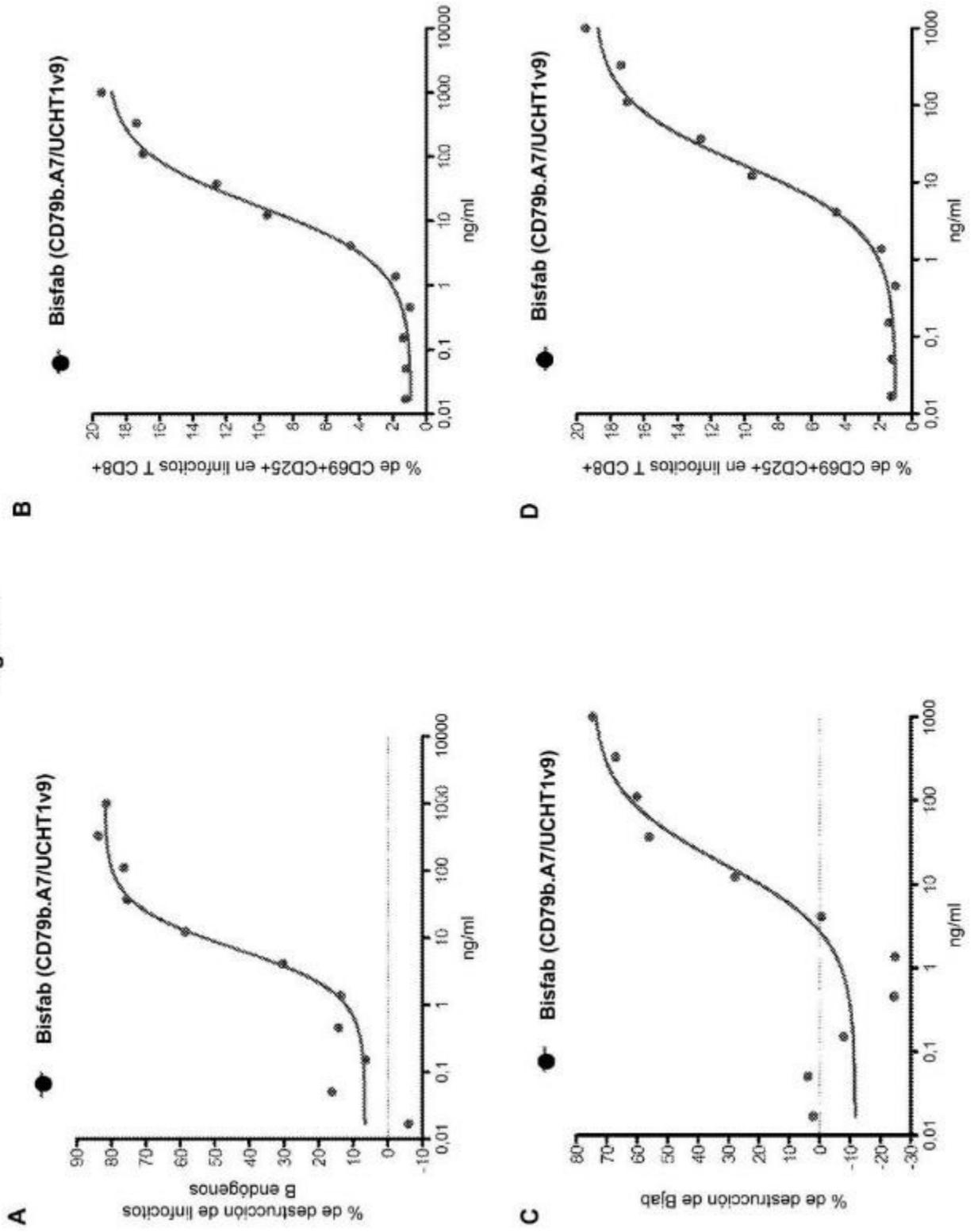


Figura 3

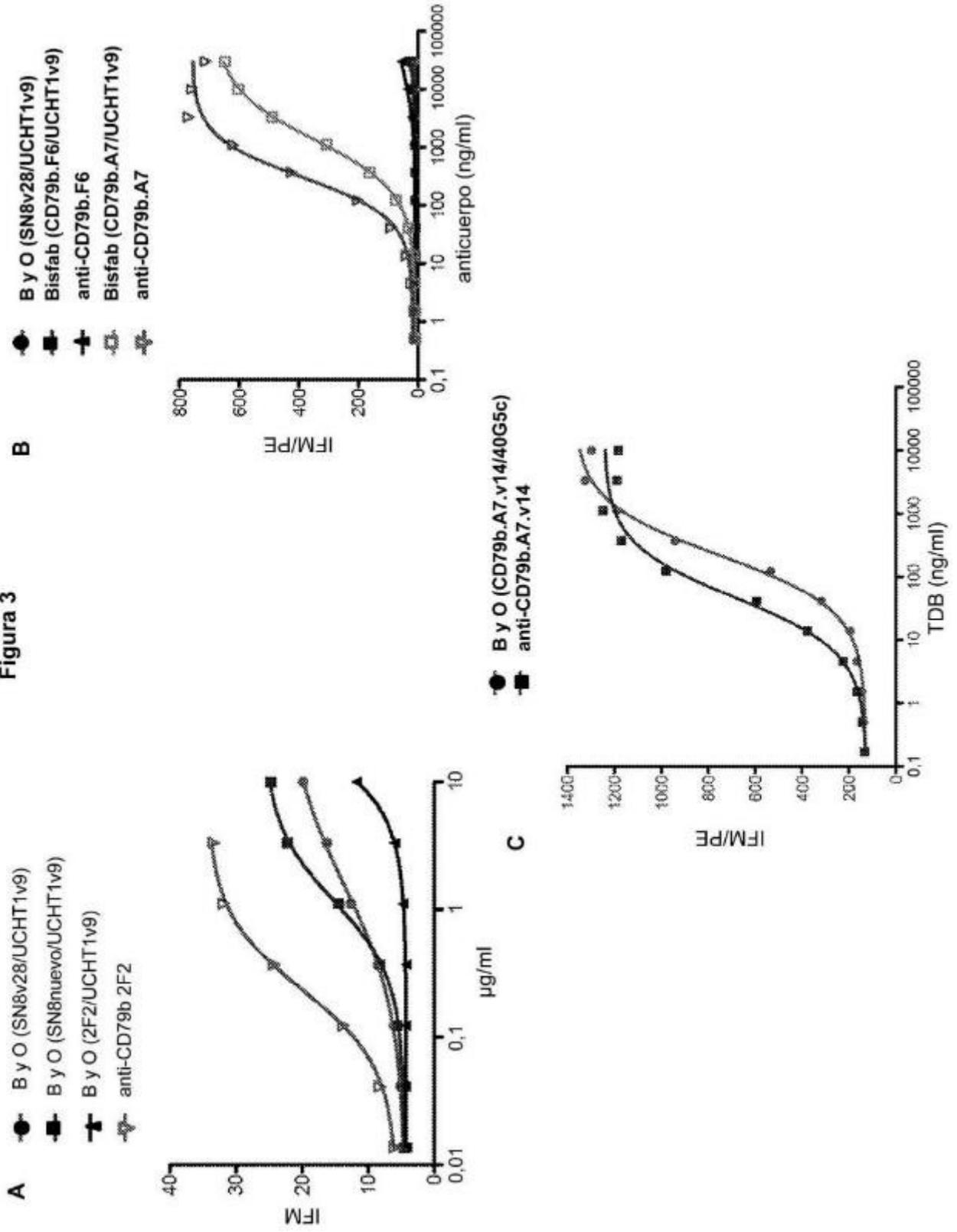


Figura 4A

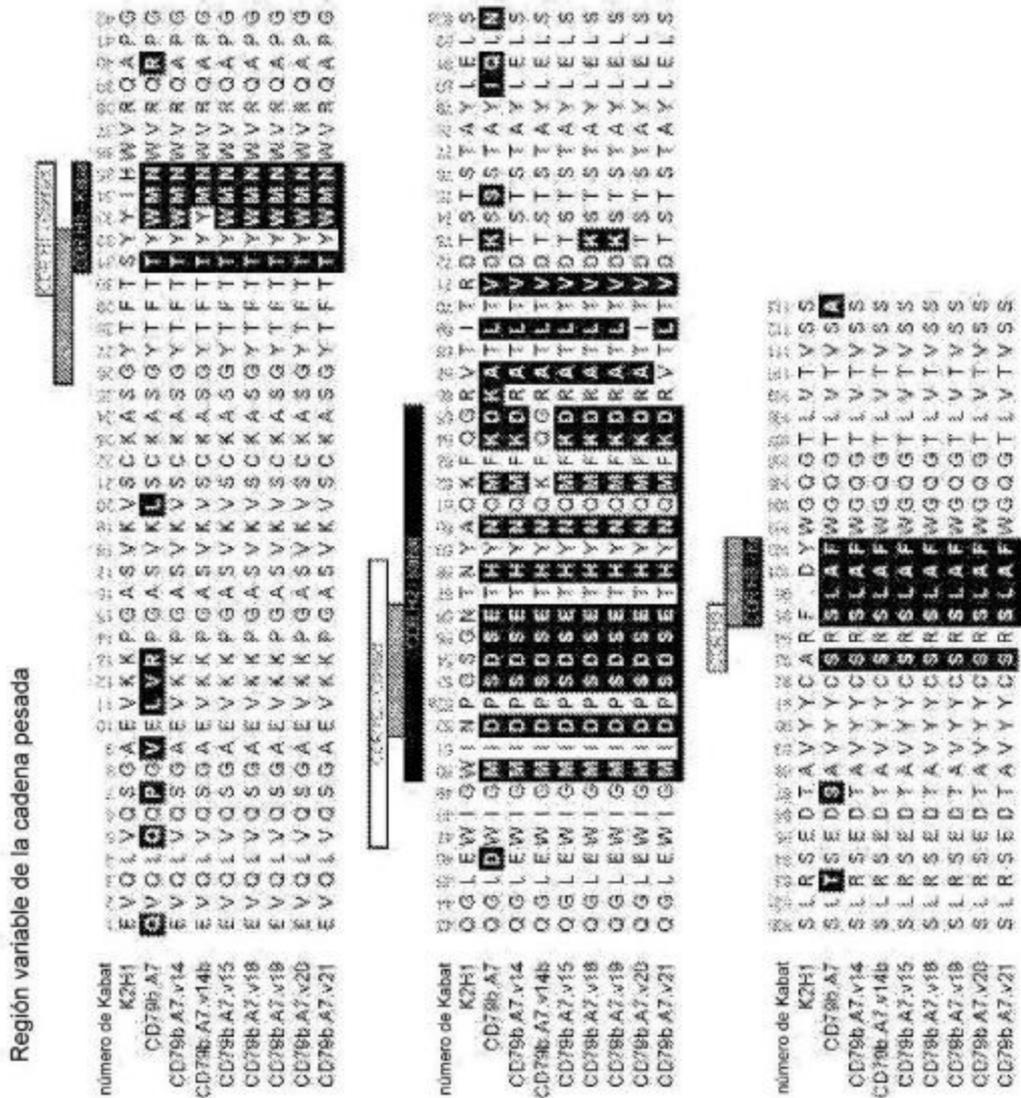


Figura 5

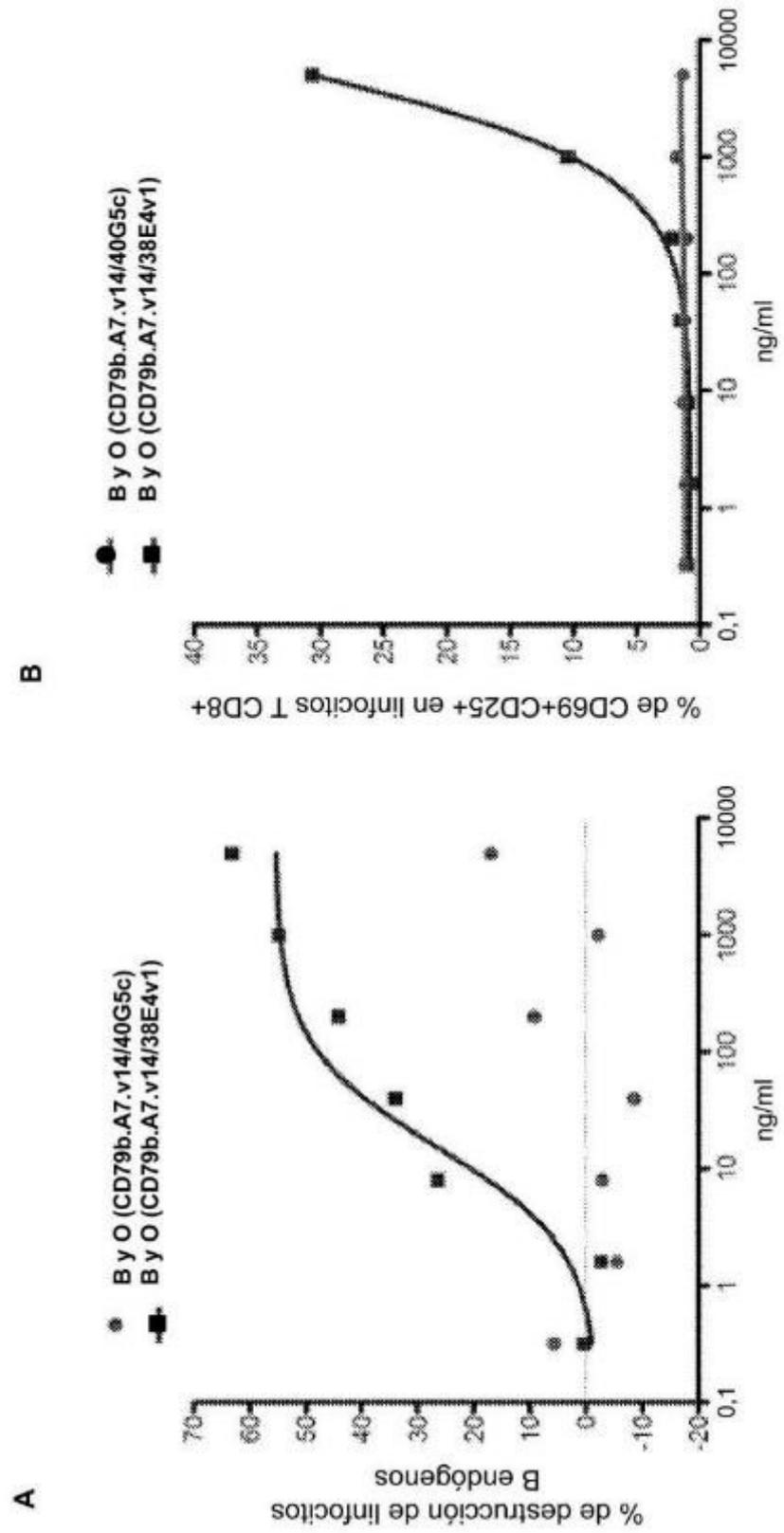


Figura 6

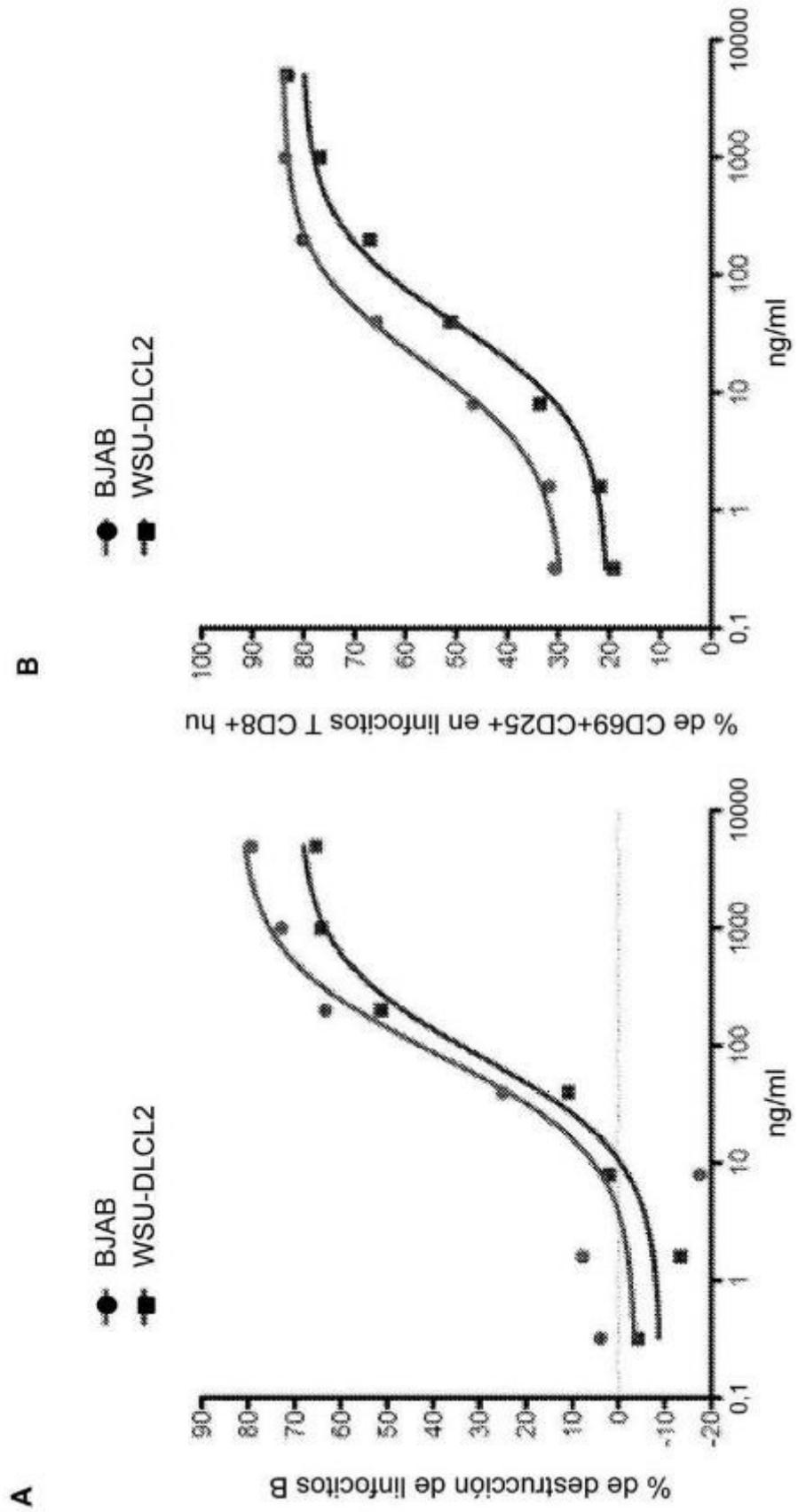


Figura 7

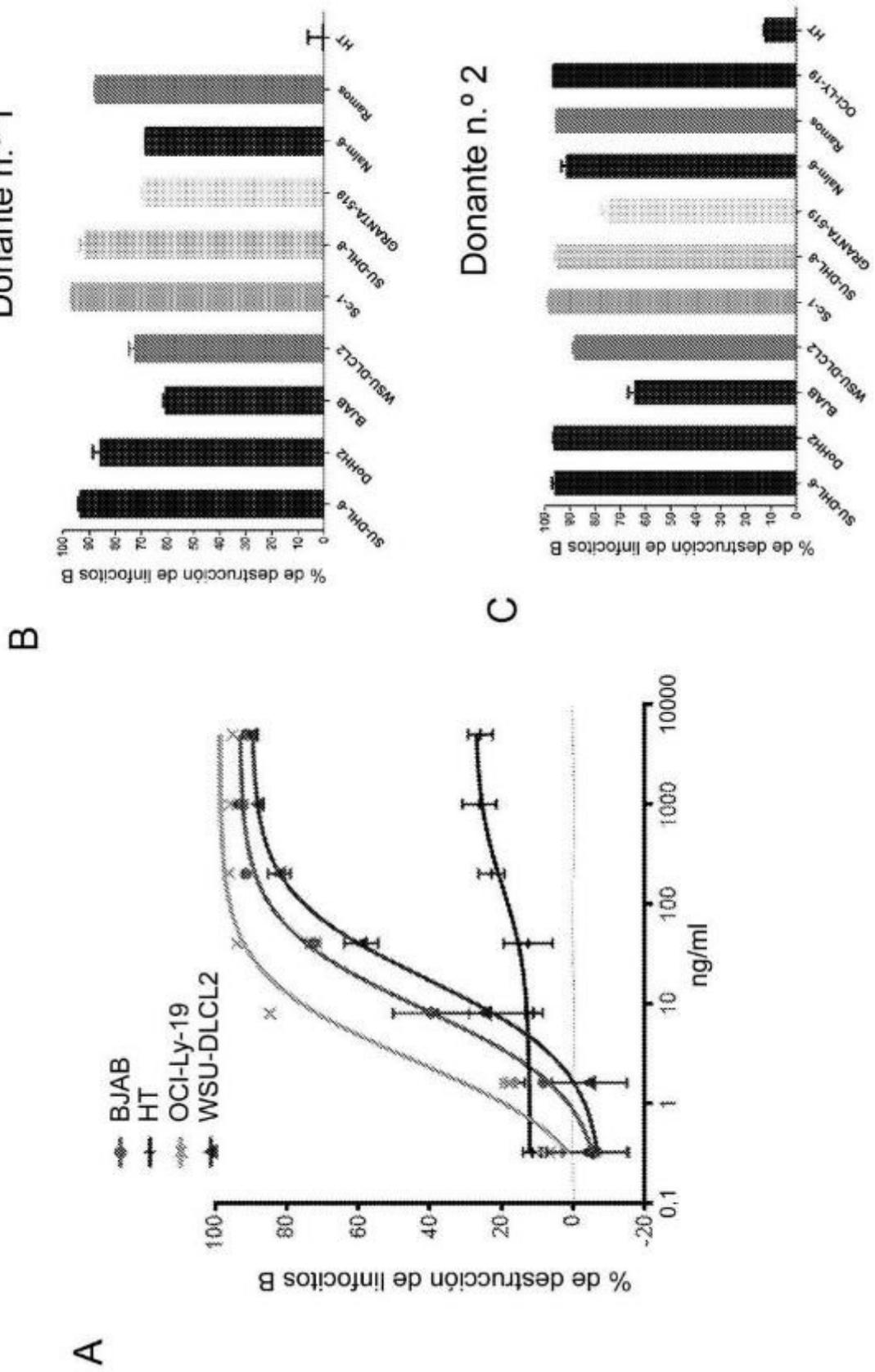


Figura 8

