

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 796 903**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28 (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01)
A61K 47/68 (2007.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61K 31/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.09.2015** **PCT/US2015/051760**

87 Fecha y número de publicación internacional: **31.03.2016** **WO16049214**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.09.2015** **E 15775880 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.04.2020** **EP 3262071**

54 Título: **Procedimiento de uso de inmunoconjugados anti-CD79b**

30 Prioridad:

23.09.2014 US 201462054257 P
07.11.2014 US 201462076823 P
20.03.2015 US 201562136324 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
30.11.2020

73 Titular/es:

F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (100.0%)
Grenzacherstrasse 124
4070 Basel, CH

72 Inventor/es:

POLSON, ANDREW;
YU, SHANG-FAN;
CHU, YU-WAYE y
WENGER, MICHAEL

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 796 903 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

Procedimiento de uso de inmunoconjugados anti-CD79b

5 CAMPO DE LA INVENCION

En el presente documento se proporcionan inmunoconjugados que comprenden un anticuerpo anti-CD79b unido a un agente citotóxico para su uso en un procedimiento para tratar un trastorno proliferativo de linfocitos B en un individuo usado en combinación con otros agentes.

10 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

CD79b es el componente de señalización del receptor de linfocitos B que actúa como heterodímero covalente que contiene CD79a (es decir, Igα o mb-1) y CD79b (es decir, Igβ 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 basado en tirosina del inmunorreceptor (ITAM). CD79 se expresa en linfocitos B y, por ejemplo, en células de linfoma no hodgkiniano (LNH) (Cabezudo *et al.*, *Haematologica* 84:413-418 (1999); D'Arena *et al.*, *Am. J. Hematol.* 64: 275-281 (2000); Olejniczak *et al.*, *Immunol. Invest.* 35: 93-114 (2006)). CD79a y CD79b y slg se requieren todos para la expresión superficial de CD79 (Matsuuchi *et al.*, *Curr. Opin. Immunol.* 13(3): 270-7)).

Los trastornos proliferativos de linfocitos B se tratan en general con alguna combinación de cirugía, radioterapia y/o tratamiento farmacológico. La experiencia clínica empírica acumulada, apoyada por modelos animales, apoya la hipótesis de que los fármacos citotóxicos pueden ser más eficaces cuando se administran en combinación para lograr efectos aditivos o sinérgicos. Sin embargo, una advertencia a la hipótesis es que el éxito requiere la capacidad de combinar fármacos en sus respectivas dosis eficaces sin efectos secundarios inaceptables y evitando posibles interacciones farmacocinéticas. Además, aunque puede parecer razonable combinar un agente dirigido con el tratamiento de referencia, la experiencia clínica indica que las diferencias en los regímenes de administración y las dosificaciones de cada agente tienen un efecto sobre la eficacia del tratamiento. Estos factores han dado lugar al fracaso clínico de muchas combinaciones. Véase, por ejemplo, Al-Lazikani *et al.*, *Nature Biotechnology* 30:679-692 (2012). Existe la necesidad en la técnica de nuevos regímenes de tratamiento para tratar trastornos proliferativos de linfocitos B que incluyen tratamientos que comprenden agentes que se dirigen a CD79b (por ejemplo, inmunoconjugados anti-CD79b).

Moschhauser *et al.* (J. Clin. Oncology, 32: 8519, 2014) informa de resultados preliminares de un estudio aleatorizado de fase II (ROMULUS) de polatuzumab vedotin (PoV) o pinatuzumab vedotin (PiV) más rituximab (RTX) en pacientes (Ptes) con linfoma no hodgkiniano (LNH) con recidiva/resistentes al tratamiento (R/R).

Rummel *et al.* (The Lancet, 381(9873): 1203-1210, 2013) informa sobre un ensayo multicéntrico de bendamustina más rituximab frente a CHOP más rituximab como tratamiento de primera línea para pacientes con linfomas de escasa malignidad y de células del manto.

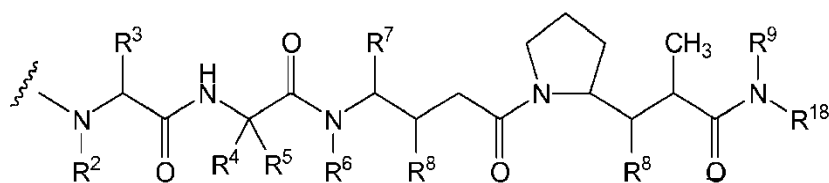
SUMARIO

En un aspecto, y como se establece en las reivindicaciones, la presente invención proporcionó un inmunoconjugado que comprende un anticuerpo anti-CD79b unido a un agente citotóxico para su uso en un procedimiento para tratar un trastorno proliferativo de linfocitos B en un individuo, en el que el inmunoconjugado es polatuzumab vedotin y el procedimiento comprende administrar el inmunoconjugado al individuo en combinación con (a) un anticuerpo anti-CD20 que es rituximab u obinituzumab y (b) un agente alquilante que es bendamustina.

Cualquier ejemplo de acuerdo con la invención como se define en las reivindicaciones forma un modo de realización de la invención.

En algunos modos de realización, el anticuerpo anti-CD20 es rituximab. En algunos modos de realización, se administra rituximab a aproximadamente 375 mg/m². En algunos modos de realización, el anticuerpo B-Ly1 humanizado es obinituzumab. En algunos modos de realización, obinituzumab se administra a aproximadamente 1000 mg/m².

En algunos modos de realización de cualquiera de los procedimientos, el agente alquilante es bendamustina. En algunos modos de realización, la bendamustina se administra a aproximadamente 25-120 mg/m². En algunos modos de realización, la bendamustina se administra a aproximadamente 90 mg/m².



En algunos modos de realización, 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 de gran malignidad recidivante, LNH de escasa malignidad recidivante, LNH resistente al tratamiento, LNH de escasa malignidad resistente al tratamiento, leucemia linfocítica crónica (LLC), linfoma linfocítico de células pequeñas, 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 linfoma folicular de escasa malignidad o linfoma difuso de linfocitos B grandes.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La figura 1 muestra el cambio en el volumen tumoral (mm^3) tras el tratamiento de WSU-CLCL2 (linfoma difuso de linfocitos B grandes con (a) huMA79bv28-MC-vc-PAB-MMAE, (b) rituximab + bendamustina, y (c) huMA79bv28-MC-vc-PAB-MMAE + rituximab + bendamustina. huMA79bv28-MC-vc-PAB-MMAE: 2 mg/kg, i.v., una vez el día 0; anti-CD20 (rituximab): 30 mg/kg, i.p., una vez el día 0, y bendamustina: 30 mg/kg, i.v., una vez el día 0.

La figura 2 muestra el cambio en el volumen tumoral (mm^3) tras el tratamiento del modelo de xenoinjertos tumorales del linfoma de células del manto humano Granta-519 con (a) vehículo, (b) huMA79bv28-MC-vc-PAB-MMAE (DCDS4501A), (c) ABT-199, y (d) huMA79bv28-MC-vc-PAB-MMAE (DCDS4501A) + ABT-199. huMA79bv28-MC-vc-PAB-MMAE (DCDS4501A): 1 mg/kg, i.v., una vez el día 0 y ABT-199: 100 mg/kg, v.o., qd21.

La figura 3A-B muestra el cambio en el volumen tumoral (mm^3) tras el tratamiento del modelo de xenoinjertos tumorales de WSU-DLCL2 (DLBCL) y TMD8 (ABC-DLBCL) con diversos regímenes de politerapia incluyendo huMA79bv28-MC-vc-PAB-MMAE.

La figura 4 muestra el cambio en el volumen tumoral (mm^3) tras el tratamiento del modelo de xenoinjertos tumorales de WSU-DLCL2 (DLBCL) con diversos regímenes de politerapia huMA79bv28-MC-vc-PAB-MMAE.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

I. Técnicas generales

La práctica de la presente invención empleará, a menos que se indique de otro modo, técnicas convencionales de biología molecular (incluyendo técnicas recombinantes), microbiología, biología celular, bioquímica e inmunología, que están dentro de la experiencia de la técnica. Dichas técnicas se explican con detalle en la literatura, tal como, "Molecular Cloning: A Laboratory Manual", segunda edición (Sambrook *et al.*, 1989); "Oligonucleotide Synthesis" (M. J. Gait, ed., 1984); "Animal Cell Culture" (R. I. Freshney, ed., 1987); "Methods in Enzymology" (Academic Press, Inc.); "Current Protocols in Molecular Biology" (F. M. Ausubel *et al.*, eds., 1987, y actualizaciones periódicas); "PCR: The Polymerase Chain Reaction", (Mullis *et al.*, ed., 1994); "A Practical Guide to Molecular Cloning" (Perbal Bernard V., 1988); "Phage Display: A Laboratory Manual" (Barbas *et al.*, 2001).

II. 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 (*cyto*)) 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 SEQ ID NO:1. Una secuencia CD79b ejemplar sin la secuencia señal se muestra en 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 tejido humano o de otra fuente, o preparar por 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 por medios recombinantes o sintéticos. El término "polipéptido CD79b de secuencia natural" engloba específicamente formas truncadas o secretadas naturales del polipéptido CD79b específico (por ejemplo, una secuencia de dominio extracelular), formas variantes naturales (por ejemplo, formas empalmadas de forma alternativa) y variantes alélicas

naturales del polipéptido.

"CD20" como se usa en el presente documento se refiere al antígeno de linfocitos B humanos CD20 (también conocido como CD20, antígeno de superficie de linfocitos B B1, Leu-16, Bp35, BM5 y LF5; la secuencia se caracteriza por la entrada de la base de datos SwissProt P1 1836) es una proteína transmembranaria hidrófoba con un peso molecular de aproximadamente 35 kD localizada en prelinfocitos B y linfocitos B maduros. (Valentine, M.A., *et al.*, *J. Biol. Chem.* 264(19) (1989) 11282-11287; Tedder, T.F., *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85 (1988) 208-12; Stamenkovic, I., *et al.*, *J. Exp. Med.* 167 (1988) 1975-80; Einfeld, D.A. *et al.*, *EMBO J.* 7 (1988) 711-7; Tedder, T.F., *et al.*, *J. Immunol.* 142 (1989) 2560-8). El gen humano correspondiente es el de 4 dominios que atraviesan la membrana, subfamilia A, miembro 1, también conocido como MS4A1. Este gen codifica un miembro de la familia de genes 4A que atraviesan la membrana. Los miembros de esta familia de proteínas naciescentes se caracterizan por rasgos característicos estructurales comunes y límites de empalme entre intrones/exones similares y presentan patrones de expresión únicos entre células hematopoyéticas y tejidos no linfáticos. Este gen codifica la molécula de superficie de linfocitos B que desempeña un papel en el desarrollo y diferenciación de linfocitos B en células plasmáticas. Este miembro de la familia se localiza en 11q12, entre un grupo de miembros de la familia. El empalme alternativo de este gen da como resultado dos variantes de transcripción que codifican la misma proteína.

Los términos "CD20" y "antígeno CD20" se usan de manera intercambiable en el presente documento e incluyen cualquier variante, isoforma y homólogo de especie del CD20 humano que se exprese de forma natural por células o se exprese en células transfectadas con el gen CD20. La unión de un anticuerpo de la invención al antígeno CD20 media en la destrucción de células que expresan CD20 (por ejemplo, una célula tumoral), inactivando el CD20. La destrucción de las células que expresan CD20 se puede producir por uno o más de los siguientes mecanismos: inducción de muerte celular/apoptosis, ADCC y CDC. Los sinónimos de CD20, como se reconoce en la técnica, incluyen el antígeno CD20 de linfocitos B, el antígeno de superficie de linfocitos B B1, Leu-16, Bp35, BM5 y LF5.

El término "expresión del antígeno CD20" pretende indicar un nivel significativo de expresión del antígeno CD20 en una célula, por ejemplo, un linfocito T o B. En un modo de realización, los pacientes que se van a tratar de acuerdo con los procedimientos de la presente invención expresan niveles significativos de CD20 en un cáncer o tumor de linfocitos B. Los pacientes que tienen un "cáncer que expresa CD20" se pueden determinar por ensayos estándar conocidos en la técnica. Por ejemplo, la expresión del antígeno CD20 se mide usando detección inmunohistoquímica (IHC), FACS o por medio de detección basada en PCR del ARNm correspondiente.

"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, anticuerpo y antígeno). La afinidad de una molécula X por su compañero Y se puede representar en general por la constante de disociación (Kd). La afinidad se puede medir por procedimientos comunes conocidos en la técnica, incluyendo los descritos en el presente documento.

Un anticuerpo "madurado por 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.

El término "anticuerpo" en el presente documento se usa en el sentido más amplio y engloba diversas estructuras de anticuerpos, incluyendo pero sin limitarse a anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, anticuerpos multispecíficos (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 multispecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpo.

Un "anticuerpo que se une al mismo epítipo" que un anticuerpo de referencia se refiere a un anticuerpo que bloquea la unión del anticuerpo de referencia a su antígeno en un ensayo de competencia en un 50 % o más y, a la inversa, el anticuerpo de referencia bloquea la unión del anticuerpo a su antígeno en un ensayo de competencia en un 50 % o más. En el presente documento se proporciona un ensayo de competencia ejemplar.

El término "epítipo" se refiere al sitio particular en una molécula de antígeno a la que se une un anticuerpo.

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.

La "clase" de un anticuerpo se refiere al tipo de dominio constante o región constante poseído por 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.

El término "anticuerpo anti-CD79b" o "anticuerpo que se une a CD79b" se refiere a un anticuerpo que se puede unir a CD79b con afinidad suficiente de modo que el anticuerpo sea útil como agente de diagnóstico y/o terapéutico para dirigirse a CD79b. Preferentemente, 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, por un radioinmunoanálisis (RIA). En determinados ejemplos, un anticuerpo que se une a CD79b tiene una constante de disociación (Kd) de $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$ o $\leq 0,1 \text{ nM}$. En determinados ejemplos, el anticuerpo anti-CD79b se une a un epítipo de CD79b que se conserva entre CD79b de diferentes especies.

El término "anticuerpo anti-CD20" se refiere a un anticuerpo que se puede unir a CD20 con afinidad suficiente de modo que el anticuerpo sea útil como agente de diagnóstico y/o terapéutico para dirigirse a CD20. Preferentemente, el grado de unión de un anticuerpo anti-CD20 a una proteína distinta de CD20 no relacionada es de menos de aproximadamente un 10 % de la unión del anticuerpo a CD20 como se mide, por ejemplo, por un radioinmunoanálisis (RIA). En determinados ejemplos, un anticuerpo que se une a CD20 tiene una constante de disociación (Kd) de $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$ o $\leq 0,1 \text{ nM}$. En determinados ejemplos, el anticuerpo anti-CD20 se une a un epítipo de CD20 que se conserva entre CD20 de diferentes especies.

El término "disfunción", en el contexto de disfunción inmunitaria, se refiere a un estado de reactividad inmunitaria reducida a la estimulación antigénica. El término incluye los elementos comunes de agotamiento y/o anergia en los que se puede producir el reconocimiento de antígenos, pero la respuesta inmunitaria resultante es ineficaz para controlar la infección o el crecimiento tumoral.

El término "disfuncional", como se usa en el presente documento, también incluye resistente o que no responde al reconocimiento de antígenos, específicamente, con alteración en la capacidad para traducir el reconocimiento de antígenos a funciones efectoras de linfocitos T posteriores, tales como proliferación, producción de citocinas (por ejemplo, IL-2) y/o destrucción de células diana.

El término "*anergia*" se refiere al estado de resistencia a la estimulación antigénica resultante de señales incompletas o insuficientes emitidas a través del receptor de linfocitos T (por ejemplo, incremento en el Ca^{+2} intracelular en ausencia de activación de ras). La anergia de linfocitos T también puede ser el resultado de la estimulación con antígeno en ausencia de coestimulación, dando como resultado que la célula se vuelva resistente a la activación posterior por el antígeno incluso en el contexto de coestimulación. El estado de resistencia se puede anular a menudo por la presencia de interleucina-2. Los linfocitos T anérgicos no experimentan expansión clonal y/o no adquieren funciones efectoras.

El término "agotamiento" se refiere al agotamiento de los linfocitos T como un estado de disfunción de los linfocitos T que surge de la señalización de TCR mantenida que se produce durante muchas infecciones crónicas y el cáncer. Se distingue de la anergia por que surge no a través de una señalización incompleta o insuficiente, sino de señalización mantenida. Se define por una mala función efectora, expresión mantenida de receptores inhibidores y un estado transcripcional distinto del de los linfocitos T de memoria o efectores funcionales. El agotamiento evita el control óptimo de infecciones y tumores. El agotamiento puede resultar tanto de las vías reguladoras negativas extrínsecas (por ejemplo, citocinas inmunorreguladoras) así como de las vías reguladoras (coestimuladoras) negativas intrínsecas celulares (PD-1, B7-H3, B7-H4, etc.).

"Potenciar la función de los linfocitos T" quiere decir inducir, provocar o estimular que un linfocito T tenga una función biológica mantenida o amplificada, o renovar o reactivar linfocitos T agotados o inactivos. Los ejemplos de potenciación de la función de linfocitos T incluyen: incremento en la secreción de interferón desde los linfocitos T CD8⁺, incremento en la proliferación, incremento en la reactividad a antígenos (por ejemplo, aclaramiento vírica, patógeno o tumoral) en relación con dichos niveles antes de la intervención. En un ejemplo, el nivel de potenciación es al menos de un 50 %, de forma alternativa un 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 100 %, 120 %, 150 % y/o un 200 %. La manera de medir esta potenciación es conocida por un experto en la técnica.

Un "trastorno disfuncional de linfocitos T" es un trastorno o afección de los linfocitos T caracterizado por una disminución en la reactividad a la estimulación antigénica. En un ejemplo particular, un trastorno disfuncional de linfocitos T es un trastorno que se asocia específicamente con un incremento inapropiado en la señalización a través de PD-1. En otro ejemplo, un trastorno disfuncional de linfocitos T es uno en que los linfocitos T son anérgicos o tienen una disminución en la capacidad de secretar citocinas, proliferar o ejecutar la actividad citolítica. En un aspecto específico, la disminución en la reactividad da como resultado un control ineficaz de un patógeno o tumor que expresa un inmunógeno. Los ejemplos de trastornos disfuncionales de linfocitos T caracterizados por la disfunción de linfocitos T incluyen infección aguda, infección crónica e inmunidad tumoral sin resolver.

La "inmunidad tumoral" se refiere al proceso en que los tumores evaden el reconocimiento y aclaramiento inmunitarios. Por tanto, como concepto terapéutico, la inmunidad tumoral se "trata" cuando dicha evasión se atenúa, y los tumores

son reconocidos y atacados por el sistema inmunitario. Los ejemplos de reconocimiento tumoral incluyen unión tumoral, reducción del volumen tumoral y aclaramiento tumoral.

- 5 "Inmunogenicidad" se refiere a la capacidad de una sustancia particular de provocar una respuesta inmunitaria. Los tumores son inmunógenos y la potenciación de la inmunogenicidad tumoral ayuda en el aclaramiento de las células tumorales por la respuesta inmunitaria. Los ejemplos de potenciación de la inmunogenicidad tumoral incluyen tratamiento con un antagonista de unión al eje PD-1 y un inmunoconjugado anti-CD79b (por ejemplo, anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE).
- 10 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 es diferente de su localización cromosómica natural.
- 15 Un anticuerpo "aislado" es uno que se ha separado de un componente de su entorno natural. En algunos ejemplos, un anticuerpo se purifica a más de un 95 % o 99 % de pureza como se determina, por ejemplo, por 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 anticuerpo, véase, por ejemplo, Flatman *et al.*, J. Chromatogr. B 848:79-87 (2007). La "región variable" o "dominio variable" de un anticuerpo se refiere a los dominios aminoterminales de la cadena pesada o ligera del anticuerpo. El dominio variable de la cadena pesada se puede denominar "VH". El dominio variable de la cadena ligera se puede denominar "VL". En general estos dominios son las partes más variables de un anticuerpo y contienen los sitios de unión a antígeno.
- 20 "Ácido nucleico aislado que codifica un anticuerpo anti-CD79b" se refiere a una o más moléculas de ácido nucleico que codifican cadenas pesadas y ligeras de anticuerpo (o fragmentos de las mismas), incluyendo 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.
- 25 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 que surgen durante la producción de una preparación de anticuerpos monoclonales, estando presentes en general dichas variantes en cantidades escasas. En contraste con las preparaciones de anticuerpos policlonales, que típicamente incluyen anticuerpos diferentes dirigidos frente a diferentes determinantes (epítopos), 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 debe interpretar que requiera la producción del anticuerpo por ningún procedimiento particular. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales que se van a usar de acuerdo con la presente invención se pueden preparar por 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, describiéndose en el presente documento dichos procedimientos y otros procedimientos ejemplares para preparar anticuerpos monoclonales.
- 30 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.
- 35 "Anticuerpos naturales" se refieren a moléculas de inmunoglobulina naturales con estructuras variables. Por ejemplo, los anticuerpos IgG naturales son glucoproteínas heterotetraméricas de aproximadamente 150.000 daltons, compuestas de dos cadenas ligeras idénticas y dos cadenas pesadas idénticas que se unen con 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, seguido 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.
- 40 El término "región Fc" en el presente documento se usa para definir una región C-terminal de una cadena pesada de inmunoglobulina que contiene al menos una parte de la región constante. El término incluye regiones Fc de secuencia natural y regiones Fc variantes. En un ejemplo, una región Fc de la cadena pesada de IgG humana se extiende de Cys226, o de Pro230, al extremo carboxilo de la cadena pesada. Sin embargo, la lisina C terminal (Lys447) de la región Fc puede estar o no estar presente. A menos que se especifique de otro modo en el presente documento, la numeración de residuos aminoácidos 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 de Health, Bethesda, MD, 1991.

"Región estructural" o "FR" se refiere a 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 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.

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 ejemplos, 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 ejemplos, 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.

Los términos "anticuerpo de longitud completa", "anticuerpo intacto" y "anticuerpo completo" se usan en el presente documento de manera intercambiable para referirse 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.

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 no ser completamente idéntica en contenido de ácido nucleico a una célula original, pero puede contener mutaciones. La descendencia mutante que tiene la misma función o actividad biológica que la cribada o seleccionada en la célula transformada originalmente se incluye en el presente documento.

Un "anticuerpo humano" es uno que posee una secuencia de aminoácidos que corresponde con la de un anticuerpo producido por un 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.

Una "región estructural consenso humana" es una región estructural que representa los residuos aminoácidos que aparecen más comúnmente en una selección de secuencias estructurales 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 NIH 91-3242, Bethesda MD (1991), vol. 1-3. En un ejemplo, para el VL, el subgrupo es el subgrupo kappa I como en Kabat *et al.*, *supra*. En un modo de realización, para el VH, el subgrupo es el subgrupo III como en Kabat *et al.*, *supra*.

Un anticuerpo "humanizado" se refiere a un anticuerpo quimérico que comprende residuos aminoácidos de HVR no humanas y residuos aminoácidos de FR humanas. En determinados ejemplos, un anticuerpo humanizado comprenderá sustancialmente todos de al menos uno, y típicamente dos, dominios variables, en los que todas o sustancialmente todas las HVR (por ejemplo, CDR) se corresponden con las de un anticuerpo no humano, y todas o sustancialmente todas las FR se corresponden con las de un anticuerpo humano. Un anticuerpo humanizado opcionalmente puede comprender 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 "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 y/o forman bucles estructuralmente definidos ("bucles hipervariables"). En general, los anticuerpos tetracatenarios naturales comprenden seis HVR; tres en el VH (H1, H2, H3) y tres en el VL (L1, L2, L3). Las HVR comprenden en general residuos aminoácidos de los bucles hipervariables y/o de las "regiones determinantes de la complementariedad" (CDR), siendo las últimas las de variabilidad de secuencia más alta y/o estando implicadas en el reconocimiento antigénico. Los bucles hipervariables ejemplares se producen en los residuos aminoácidos 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).) Las CDR ejemplares (CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3) se producen en los residuos aminoácidos 24-34 de L1, 50-56 de L2, 89-97 de L3, 31-35B de H1, 50-65 de H2, y 95-102 de H3. (Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5.^a Ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991).) Con la excepción de CDR1 en VH, las CDR comprenden en general los residuos aminoácidos que forman los bucles hipervariables. Las CDR también comprenden "residuos determinantes de la especificidad" o "SDR", que son los residuos que entran en contacto con el antígeno. Los SDR están contenidos dentro de regiones de las CDR llamadas CDR abreviadas o a-CDR. Las a-

CDR ejemplares (a-CDR-L1, a-CDR-L2, a-CDR-L3, a-CDR-H1, a-CDR-H2 y a-CDR-H3) se producen en los residuos aminoacídicos 31-34 de L1, 50-55 de L2, 89-96 de L3, 31-35B de H1, 50-58 de H2 y 95-102 de H3. (Véase Almagro y Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008).) A menos que se indique de otro modo, los residuos de HVR y otros residuos en el dominio variable (por ejemplo, residuos de FR) se numeran en el presente documento de acuerdo con Kabat *et al.*, *supra*.

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 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*, 6ª 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).

"Funciones efectoras" se refieren a las actividades biológicas atribuibles a la región Fc de un anticuerpo, que varían con el isotipo del 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 (CCDA); fagocitosis; regulación por disminución de receptores de la superficie celular (por ejemplo, receptor de linfocitos B) y activación de linfocitos B.

"Variante de polipéptido CD79b" quiere decir un polipéptido CD79b, preferentemente un polipéptido CD79b activo, como se define en el presente documento que tiene al menos aproximadamente un 80 % de identidad de secuencia de aminoácidos con una secuencia de polipéptido CD79b de secuencia natural de longitud completa como se divulga en el presente documento, una secuencia de polipéptido CD79b que carece del péptido señal como se divulga en el presente documento, un dominio extracelular de un polipéptido CD79b, con o sin el péptido señal, como se divulga en el presente documento o cualquier otro fragmento de una secuencia de polipéptido CD79b de longitud completa como se divulga en el presente documento (tal como los codificados por un ácido nucleico que representa solo una porción de la secuencia codificante completa para un polipéptido CD79b de longitud completa). Dichas variantes de polipéptido CD79b incluyen, por ejemplo, polipéptidos CD79b en los que uno o más residuos aminoacídicos se añaden o delecionan, en el extremo N o C de la secuencia de aminoácidos natural de longitud completa. Normalmente, una variante de polipéptido CD79b tendrá al menos aproximadamente un 80 % de identidad de secuencia de aminoácidos, de forma alternativa al menos aproximadamente un 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos, con una secuencia de polipéptido CD79b de secuencia natural de longitud completa como se divulga en el presente documento, una secuencia de polipéptido CD79b que carece del péptido señal como se divulga en el presente documento, un dominio extracelular de un polipéptido CD79b, con o sin el péptido señal, como se divulga en el presente documento o cualquier otro fragmento específicamente definido de una secuencia de polipéptido CD79b de longitud completa como se divulga en el presente documento. Normalmente, los polipéptidos variantes CD79b tienen al menos aproximadamente 10 aminoácidos de longitud, de forma alternativa al menos aproximadamente 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320, 330, 340, 350, 360, 370, 380, 390, 400, 410, 420, 430, 440, 450, 460, 470, 480, 490, 500, 510, 520, 530, 540, 550, 560, 570, 580, 590, 600 aminoácidos de longitud, o más. Opcionalmente, los polipéptidos variantes CD79b no tendrán más de una sustitución aminoacídica conservadora en comparación con una secuencia del polipéptido CD79b natural, de forma alternativa no más de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 sustituciones aminoacídicas conservadoras en comparación con la secuencia del polipéptido CD79b natural.

"Porcentaje (%) de identidad de secuencia de aminoácidos" con respecto a una secuencia polipeptídica de referencia se define como el porcentaje de residuos aminoacídicos en una secuencia candidata que son idénticos a los residuos aminoacídicos en la secuencia polipeptídica de referencia, después de alinear las secuencias e introducir huecos, en caso necesario, para lograr el porcentaje máximo de identidad de secuencia, y sin considerar ninguna sustitución conservadora como parte de la identidad de secuencia. Se puede lograr la alineación para los propósitos de determinar el porcentaje de identidad de secuencia de aminoácidos de diversas formas 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 parámetros apropiados para alinear secuencias, incluyendo cualquier algoritmo necesario para lograr una alineación máxima sobre la longitud completa de las secuencias que se comparan. Sin embargo, para los propósitos en el presente documento, los valores de % de identidad de secuencia de aminoácidos se generan usando el programa informático 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 está 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 por 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 dada A con respecto a, con o frente a una secuencia de aminoácidos dada B (que se puede parafrasear de forma alternativa como una secuencia de aminoácidos dada A que tiene o comprende un determinado % de identidad de secuencia de aminoácidos con respecto a, con o frente a una secuencia de aminoácidos dada B) se calcula como sigue:

$$100 \text{ veces la fracción } X/Y$$

donde X es el número de residuos aminoacídicos puntuados como coincidencias idénticas por 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 aminoacídicos 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 "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".

Un "inmunoconjugado" es un anticuerpo conjugado con una o más moléculas heterólogas, 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 celular. Los agentes citotóxicos incluyen, pero no se limitan a, isótopos radioactivos (por ejemplo, At^{211} , I^{131} , I^{125} , Y^{90} , Re^{186} , Re^{188} , Sm^{153} , Bi^{212} , P^{32} , Pb^{212} e isótopos radioactivos de Lu); agentes o fármacos quimioterápicos (por ejemplo, metotrexato, adriamicina, alcaloides de la vinca (vincristina, vinblastina, etopósido), doxorrubicina, 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.

Los términos "cáncer" y "canceroso" se refieren a o describen la afección fisiológica en mamíferos que se caracteriza típicamente por un crecimiento celular no regulado. Los ejemplos de cáncer incluyen pero no se limitan a, así como linfoma de linfocitos B (incluyendo 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 no hendidas pequeñas de grado alto; LNH con gran masa tumoral; linfoma de células del manto; linfoma relacionado con el sida y macroglobulinemia de Waldenström); leucemia linfocítica crónica (LLC); leucemia linfoblástica aguda (LLA); tricoleucemia; leucemia mieloblástica crónica; y trastorno linfoproliferativo posterior al trasplante (PTLD), así como proliferación vascular anómala asociada con facomatosis, edema (tal como el asociado con tumores cerebrales), trastornos proliferativos de linfocitos B y síndrome de Meigs. Los ejemplos más específicos incluyen, pero no se limitan a, LNH recidivante o resistente al tratamiento, LNH de primera línea de grado bajo, LNH en estadio III/IV, LNH resistente a quimioterapia, leucemia y/o linfoma linfoblástico de linfocitos B precursores, linfoma linfocítico pequeño, leucemia linfocítica crónica y/o leucemia prolinfocítica de linfocitos B y/o linfoma linfocítico pequeño, linfoma prolinfocítico de linfocitos B, inmunocitoma y/o linfoma linfoplasmocítico, 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 centrofolicular (folicular), LNH difuso de grado intermedio, linfoma difuso de linfocitos B grandes, LNH de gran malignidad (incluyendo LNH de gran malignidad de primera línea y LNH de gran malignidad recidivante), LNH recidivante después del o resistente al autotrasplante de células madre, linfoma de linfocitos B grandes mediastínico primario, linfoma de efusión primario, LNH inmunoblástico de grado alto, LNH linfoblástico de grado alto, LNH de células no hendidas pequeñas de grado alto, LNH con gran masa tumoral, linfoma de Burkitt, leucemia linfocítica de los linfocitos grandes granulares precursores (periféricos), micosis fungoide y/o síndrome de Sezary, linfomas de la piel (cutáneos), linfoma anaplásico de células grandes, linfoma angiocéntrico.

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 ejemplos, el individuo o sujeto es un ser humano.

Una "cantidad eficaz" de un agente, por ejemplo, una formulación farmacéutica, se refiere a una cantidad eficaz, en

las dosificaciones y durante los periodos de tiempo necesarios, para lograr el resultado terapéutico o profiláctico deseado.

El término "formulación farmacéutica" se refiere a una preparación que está en tal forma 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 administraría la formulación.

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

Como se usa en el presente documento, "tratamiento" (y 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 está tratando, 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, reducción de la cadena ligera libre, prevención de la aparición o recidiva de la enfermedad, alivio de los síntomas, disminución de cualquier consecuencia patológica directa o indirecta de la enfermedad, disminución de la tasa de progresión de la enfermedad, mejora o atenuación del estado de la enfermedad y remisión o mejora del pronóstico. En algunos modos de realización, los anticuerpos descritos en el presente documento se usan para retrasar el desarrollo de una enfermedad o para ralentizar la progresión de una enfermedad.

El término "cáncer positivo para CD79b" se refiere a un cáncer que comprende células que expresan CD79b en su superficie. En algunos modos de realización, la expresión de CD79b en la superficie celular se determina, por ejemplo, usando anticuerpos frente a CD79b en un procedimiento tal como inmunohistoquímica, FACS, etc. De forma alternativa, se considera que la expresión de ARNm de CD79b se correlaciona con la expresión de CD79b en la superficie celular y se puede determinar por un procedimiento seleccionado de hibridación *in situ* y RT-PCR (incluyendo RT-PCR cuantitativa).

Como se usa en el presente documento, "junto con" se refiere a la administración de una modalidad de tratamiento además de otra modalidad de tratamiento. Como tal, "junto con" se refiere a la administración de una modalidad de tratamiento antes, durante o después de la administración de la otra modalidad de tratamiento al individuo.

Un "agente quimioterápico" es un compuesto químico útil en el tratamiento del cáncer. Los ejemplos de agentes quimioterápicos incluyen erlotinib (TARCEVA®, Genentech/OSI Pharm.), bortezomib (VELCADE®, Millennium Pharm.), disulfiram, galato de epigallocatequina, salinosporamida A, carfilzomib, 17-AAG (geldanamicina), radicicol, lactato deshidrogenasa A (LDH-A), fulvestrant (FASLODEX®, AstraZeneca), sunitib (SUTENT®, Pfizer/Sugen), letrozol (FEMARA®, Novartis), mesilato de imatinib (GLEEVEC®, Novartis), finasunato (VATALANIB®, Novartis), oxaliplatino (ELOXATIN®, Sanofi), 5-FU (5-fluorouracilo), ácido fólico, rapamicina (Sirolimus, RAPAMUNE®, Wyeth), Lapatinib (TYKERB®, GSK572016, Glaxo Smith Kline), Lonafamib (SCH 66336), sorafenib (NEXAVAR®, Bayer Labs), gefitinib (IRESSA®, AstraZeneca), AG1478, agentes alquilantes tales como tiotepa y CYTOXAN® ciclosfosfamida; sulfonatos de alquilo tales como busulfano, improsulfano y piposulfano; aciridinas tales como benzodopa, carbocuna, meturedopa, y uredopa; etileniminas y metilamelaminas incluyendo altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilenfosforamida y trimetilomelamina; acetogeninas (en especial bulatacina y bulatacinona); una camptotecina (incluyendo topotecán e irinotecán); briostatina; calistatina; CC-1065 (incluyendo sus análogos sintéticos adocesina, carcelesina y bicelesina); criptoficinas (en particular criptoficina 1 y criptoficina 8); adrenocorticoesteroides (incluyendo prednisona y prednisolona); acetato de ciproterona; 5 α -reductasas incluyendo finasterida y dutasterida; vorinostat, romidepsina, panobinostat, ácido valproico, mocetinoestat dolastatina; aldesleucina, talco duocarmicina (incluyendo los análogos sintéticos, KW-2189 y CB1-TM1); eleuterobina; pancratistatina; una sarcodictina; espongiatrina; mostazas nitrogenadas tales como clorambucilo, clomafacina, clorofosfamida, estramustina, 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 enediina (por ejemplo, caliqueamicina, en especial caliqueamicina γ 11 y caliqueamicina ω 11 (Angew Chem. Intl. Ed. Engl. 1994 33:183-186); dinemicina, incluyendo dinemicina A; bisfosfonatos, tales como clodronato; una esperamicina; así como neocarcinostatina-cromóforo y cromóforos antibióticos de cromoproteínas enediina relacionados), aclacinomisininas, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, carabicina, caminomicina, carcinofilina, cromomicinas, dactinomicina, daunorrubicina, detorrubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, ADRLAMICINA® (doxorubicina), morfolino-doxorrubicina, cianomorfolino-doxorrubicina, 2-pirrolino-doxorrubicina y desoxidoxorubicina), epirubicina, esorubicina, everolimus, sotrataurina, idarrubicina, marcelomicina, mitomicinas tales como mitomicina C, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, porfiromicina, puomicina, quelamicina, rodorrubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, cinostatina, zorrubicina; anti-metabolitos tales como metotrexato y 5-fluorouracilo (5-FU); análogos de 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, doxiluridina, enocitabina, floxuridina; andrógenos tales como calusterona, propionato de dromostanolona, epitostanol, mepitostanol, testolactona; antiadrenales tales como aminoglutetimida, mitotano, trilostano; reabastecedores de ácido fólico tales como ácido frolínico; aceglatona; aldofosfamida glucósido; ácido

aminolevulínico; eniluracilo; amsacrina; bestrabucilo; bisantreno; edatraxato; defofamina; demecolcina; diacicuona; elfomitina; acetato de eliptinio; una epotilona; etoglúcido; nitrato de galio; hidroxurea; lentinano; lonidainina; maitansinoides tales como maitansina y ansamitocinas; mitoguazona; mitoxantrona; mopidamol; nitraerina; pentostatina; fenamet; pirarrubicina; losoxantrona; ácido podofilínico; 2-etilhidracida; procarbacin; complejo polisacárido PSK® (JHS Natural Products, Eugene, Oreg.); razoxano; rizoxina; sizofurano; espirogermanio; ácido tenuazónico; triazicuona; 2,2',2"-triclorotrietilamina; tricotecenos (en especial toxina T-2, verracurina A, roridina A y anguidina); uretano; vindesina; dacarbacin; manomustina; mitobronitol; mitolactol; pipobromán; gacitosina; arabinósido ("Ara-C"); ciclofosfamida; tiotepa; taxoides, por ejemplo, TAXOL (paclitaxel; Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.), ABRAXANE® (sin Cremofor), formulaciones nanoparticuladas fabricadas con albúmina de paclitaxel (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Ill.), y TAXOTERE® (docetaxel, doxetaxel; Sanofi-Aventis); cloranbucilo; GEMZAR® (gemcitabina); 6-tioguanina; mercaptopurina; metotrexato; análogos de platino tales como cisplatino y carboplatino; vinblastina; etopósido (VP-16); ifosfamida; mitoxantrona; vincristina; NAVELBINE® (vinorelbina); novantrona; tenipósido; edatrexato; daunomicina; aminopterina; capecitabina (XELODA®); ibandronato; CPT-11; inhibidor de la topoisomerasa RFS 2000; difluorometilornitina (DMFO); retinoides tales como ácido retinoico; y ácidos, derivados y sales 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 un régimen de tratamiento con oxaliplatino (ELOXATIN™) combinado con 5-FU y ácido fólico. Los ejemplos adicionales incluyen agentes quimioterápicos que incluyen bendamustina (TREANDA®), ibrutinib, lenalidomida y/o idelalisib (GS-1101).

Los agentes adicionales de agentes quimioterápicos incluyen agentes antihormonales que actúan para regular, reducir, bloquear o inhibir los efectos de hormonas que pueden promover el crecimiento del cáncer, y que a menudo están en forma de tratamiento sistémico o de todo el cuerpo. Pueden ser las propias hormonas. Los ejemplos incluyen antiestrógenos y moduladores selectivos de receptores de estrógenos (SERM), incluyendo, por ejemplo, tamoxifeno (incluyendo tamoxifeno NOLVADEX®), raloxifeno (EVISTA®), droloxifeno, 4-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, keoxifeno, LY117018, onapristona y toremifeno (FARESTON®); antiprogesteronas; reguladores por disminución de receptores de estrógenos (ERD); antagonistas de receptores de estrógenos tales como fulvestrant (FASLODEX®); agentes que funcionan suprimiendo o paralizando los ovarios, por ejemplo, agonistas de la hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH) tales como acetato de leuprolida (LUPRON® y ELIGARD®), acetato de goserelina, acetato de buserelina y tripterelina; antiandrógenos tales como flutamida, nilutamida y bicalutamida; e inhibidores de la aromatasa que inhiben la enzima aromatasa, que regula la producción de estrógenos en las glándulas suprarrenales, tales como, por ejemplo, 4(5)-imidazoles, aminoglutetimida, acetato de megestrol (MEGASE®), exemestano (AROMASIN®), formestano, fadrozol, vorozol (RIVISOR®), letrozol (FEMARA®) y anastrozol (ARIMIDEX®). Además, dicha definición de agentes quimioterápicos incluye bifosfonatos tales como clodronato (por ejemplo, BONEFOSO u OSTAC®), etidronato (DIDROCAL®), NE-58095, ácido zoledrónico/zoledronato (ZOMETA®), alendronato (FOSAMAX®), pamidronato (AREDIA®), tiludronato (SKELID®) o risedronato (ACTONEL®); así como troxacitabina (un análogo nucleosídico de 1,3-dioxolano-citosina); oligonucleótidos antisentido, en particular los 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 receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGF-R); vacunas tales como vacuna THERATOPE® y las vacunas de tratamiento génico, por ejemplo, vacuna ALLOVECTIN®, vacuna LEUVECTIN® y vacuna VAXID®.

En algunos ejemplos, el agente quimioterápico incluye inhibidor de la topoisomerasa 1 (por ejemplo, LURTOTECAN®); un antiestrógeno tal como fulvestrant; un inhibidor de Kit tal como imatinib o EXEL-0862 (un inhibidor de tirosina cinasa); inhibidor de EGFR tal como erlotinib o cetuximab; un inhibidor anti-VEGF tal como bevacizumab; irinotecán; rmRH (por ejemplo, ABARELIX®); lapatinib y ditosilato de lapatinib (un inhibidor de molécula pequeña de tirosina cinasa doble ErbB-2 y EGFR también conocido como GW572016); 17AAG (derivado de geldanamycin que es una toxina para la proteína de choque térmico (Hsp) 90) y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores.

El agente quimioterápico también incluye anticuerpos tales como alemtuzumab (Campath), bevacizumab (AVASTIN®, Genentech); cetuximab (ERBITUX®, Imclone); panitumumab (VECTIBIX®, Amgen), rituximab (RITUXAN®, Genentech/Biogen Idec), ublituximab, ofatumumab, ibritumomab tiuxetán, pertuzumab (OMNITARG®, 2C4, Genentech), trastuzumab (HERCEPTIN®, Genentech), tositumomab (Bexxar, Corixa), y el conjugado anticuerpo-fármaco, gemtuzumab ozogamicina (MYLOTARG®, Wyeth). Los anticuerpos monoclonales humanizados adicionales con potencial terapéutico como agentes en combinación con los compuestos incluyen: apolizumab, aselizumab, atlizumab, bapineuzumab, bivatumab mertansina, cantuzumab ejemplo, cedelizumab, certolizumab pegol, cidfusituzumab, cidtuzumab, daclizumab, eculizumab, efalizumab, epratuzumab, erlizumab, felvizumab, fontolizumab, gemtuzumab ozogamicina, inotuzumab ozogamicina, ipilimumab, labetuzumab, lintuzumab, matuzumab, mepolizumab, motavizumab, motovizumab, natalizumab, nimotuzumab, nolovizumab, numavizumab, ocrelizumab, omalizumab, palivizumab, pascolizumab, pectusituzumab, pectuzumab, pexelizumab, ralivizumab, ranibizumab, reslivizumab, reslizumab, resyvizumab, rovelizumab, ruplizumab, sibrotuzumab, siplizumab, sontuzumab, tacatuzumab tetraxetan, tadocizumab, talizumab, tefibazumab, tocilizumab, toralizumab, tucotuzumab celmoleukin, tucusituzumab, umavizumab, urtoxazumab, ustekinumab, visilizumab, y el anti-interleucina-12 (ABT-874/J695, Wyeth Research and Abbott Laboratories) que es un anticuerpo IgG1 λ de longitud completa de secuencia humana exclusivamente recombinante modificado genéticamente para reconocer la proteína p40 de interleucina 12.

Como se usa en el presente documento, el término "citocina" se refiere genéricamente a proteínas liberadas por una población celular que actúan sobre otra célula como mediadores intercelulares o tienen un efecto autocrino sobre las células que producen las proteínas. Los ejemplos de dichas citocinas incluyen linfocinas, monocinas; interleucinas ("IL") tales como IL-1, IL-1 α , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17A-F, IL-18 a IL-29 (tales como IL-23), IL-31, incluyendo rIL-2 PROLEUKIN®; un factor de necrosis tumoral tal como TNF- α o TNF- β , TGF- β 1-3; y otros factores polipeptídicos incluyendo factor inhibidor de leucemia ("LIF"), factor neurotrófico ciliar ("CNTF"), citocina de tipo CNTF ("CLC"), cardiotrofina ("CT") y ligando de Kit ("KL").

Como se usa en el presente documento, el término "quimiocina" se refiere a factores solubles (por ejemplo, citocinas) que tienen la capacidad de inducir selectivamente la quimiotaxia y la activación de leucocitos. También desencadenan procesos de angiogénesis, inflamación, cicatrización y oncogénesis. Los ejemplos de quimiocinas incluyen IL-8, un homólogo humano de quimiotaxina de queratinocitos (KC) murinos.

El término "prospecto de envase" se usa para referirse a las instrucciones incluidas habitualmente en 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.

"Alquilo" es un hidrocarburo C₁-C₁₈ que contiene átomos de carbono normales, secundarios, terciarios o cíclicos. Los ejemplos son metilo (Me, -CH₃), etilo (Et, -CH₂CH₃), 1-propilo (n-Pr, n-propilo, -CH₂CH₂CH₃), 2-propilo (i-Pr, i-propilo, -CH(CH₃)₂), 1-butilo (n-Bu, n-butilo, -CH₂CH₂CH₂CH₃), 2-metil-1-propilo (i-Bu, i-butilo, -CH₂CH(CH₃)₂), 2-butilo (s-Bu, s-butilo, -CH(CH₃)CH₂CH₃), 2-metil-2-propilo (t-Bu, t-butilo, -C(CH₃)₃), 1-pentilo (n-pentilo, -CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃), 2-pentilo (-CH(CH₃)CH₂CH₂CH₃), 3-pentilo (-CH(CH₂CH₃)₂), 2-metil-2-butilo (-C(CH₃)₂CH₂CH₃), 3-metil-2-butilo (-CH(CH₃)CH(CH₃)₂), 3-metil-1-butilo (-CH₂CH₂CH(CH₃)₂), 2-metil-1-butilo (-CH₂CH(CH₃)CH₂CH₃), 1-hexilo (-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃), 2-hexilo (-CH(CH₃)CH₂CH₂CH₂CH₃), 3-hexilo (-CH(CH₂CH₃)(CH₂CH₂CH₃)), 2-metil-2-pentilo (-C(CH₃)₂CH₂CH₂CH₃), 3-metil-2-pentilo (-CH(CH₃)CH(CH₃)CH₂CH₃), 4-metil-2-pentilo (-CH(CH₃)CH₂CH(CH₃)₂), 3-metil-3-pentilo (-C(CH₃)(CH₂CH₃)₂), 2-metil-3-pentilo (-CH(CH₂CH₃)CH(CH₃)₂), 2,3-dimetil-2-butilo (-C(CH₃)₂CH(CH₃)₂), 3,3-dimetil-2-butilo (-CH(CH₃)C(CH₃)₃).

El término "alquilo C₁-C₈", como se usa en el presente documento se refiere a un hidrocarburo saturado o insaturado de cadena lineal o ramificado que tiene de 1 a 8 átomos de carbono. Los grupos "alquilo C₁-C₈" representativos incluyen, pero no se limitan a, -metilo, -etilo, -n-propilo, -n-butilo, -n-pentilo, -n-hexilo, -n-heptilo, -n-octilo, -n-nonilo y -n-decilo; mientras que los alquilos C₁-C₈ ramificados incluyen, pero no se limitan a, -isopropilo, -sec-butilo, -isobutilo, -terc-butilo, -isopentilo, 2-metilbutilo, los alquilos C₁-C₈ insaturados incluyen, pero no se limitan a, -vinilo, -alilo, -1-butenilo, -2-butenilo, -isobutilenilo, -1-pentenilo, -2-pentenilo, -3-metil-1-butenilo, -2-metil-2-butenilo, -2,3-dimetil-2-butenilo, 1-hexilo, 2-hexilo, 3-hexilo, -acetilenilo, -propinilo, -1-butenilo, -2-butenilo, -1-pentinilo, -2-pentinilo, -3-metil-1-butenilo. Un grupo alquilo C₁-C₈ puede estar insustituido o sustituido con uno o más grupos incluyendo, pero sin limitarse a, -alquilo C₁-C₈, -O-(alquilo C₁-C₈), -arilo, -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -SO₃R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, -halógeno, -N₃, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂ y -CN; donde cada R' se selecciona independientemente de H, -alquilo C₁-C₈ y arilo.

El término "alquilo C₁-C₁₂", como se usa en el presente documento se refiere a un hidrocarburo saturado o insaturado de cadena lineal o ramificado que tiene de 1 a 12 átomos de carbono. Un grupo alquilo C₁-C₁₂ puede estar insustituido o sustituido con uno o más grupos incluyendo, pero sin limitarse a, -alquilo C₁-C₈, -O-(alquilo C₁-C₈), -arilo, -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -SO₃R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, -halógeno, -N₃, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂ y -CN; donde cada R' se selecciona independientemente de H, -alquilo C₁-C₈ y arilo.

El término "alquilo C₁-C₆", como se usa en el presente documento se refiere a un hidrocarburo saturado o insaturado de cadena lineal o ramificado que tiene de 1 a 6 átomos de carbono. Los grupos "alquilo C₁-C₆" representativos incluyen, pero no se limitan a, -metilo, -etilo, -n-propilo, -n-butilo, -n-pentilo y n-hexilo; mientras que los alquilos C₁-C₆ ramificados incluyen, pero no se limitan a, -isopropilo, -sec-butilo, -isobutilo, -terc-butilo, -isopentilo y 2-metilbutilo; los alquilos C₁-C₆ insaturados incluyen, pero no se limitan a, -vinilo, -alilo, -1-butenilo, -2-butenilo, e -isobutilenilo, -1-pentenilo, -2-pentenilo, -3-metil-1-butenilo, -2-metil-2-butenilo, -2,3-dimetil-2-butenilo, 1-hexilo, 2-hexilo y 3-hexilo. Un grupo alquilo C₁-C₆ puede estar insustituido o sustituido con uno o más grupos, como se describe anteriormente para el grupo alquilo C₁-C₈.

El término "alquilo C₁-C₄", como se usa en el presente documento se refiere a un hidrocarburo saturado o insaturado de cadena lineal o ramificado que tiene de 1 a 4 átomos de carbono. Los grupos "alquilo C₁-C₄" representativos incluyen, pero no se limitan a, -metilo, -etilo, -n-propilo, -n-butilo; mientras que los alquilos C₁-C₄ ramificados incluyen, pero no se limitan a, -isopropilo, -sec-butilo, -isobutilo, -terc-butilo; los alquilos C₁-C₄ insaturados incluyen, pero no se limitan a, -vinilo, -alilo, -1-butenilo, -2-butenilo e -isobutilenilo. Un grupo alquilo C₁-C₄ puede estar insustituido o sustituido con uno o más grupos, como se describe anteriormente para el grupo alquilo C₁-C₈.

"Alcoxi" es un grupo alquilo unido individualmente a un oxígeno. Los grupos alcoxi ejemplares incluyen, pero no se limitan a, metoxi (-OCH₃) y etoxi (-OCH₂CH₃). Un "alcoxi C₁-C₅" es un grupo alcoxi con de 1 a 5 átomos de carbono. Los grupos alcoxi pueden estar insustituidos o sustituidos con uno o más grupos, como se describe anteriormente

para grupos alquilo.

"Alquenilo" es un hidrocarburo C_2-C_{18} que contiene átomos de carbono normales, secundarios, terciarios o cíclicos con al menos un sitio de insaturación, es decir, un doble enlace sp^2 carbono-carbono. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a: etileno o vinilo ($-CH=CH_2$), alilo ($-CH_2CH=CH_2$), ciclopentenilo ($-C_5H_7$) y 5-hexenilo ($-CH_2CH_2CH_2CH=CH_2$). Un "alquenilo C_2-C_8 " es un hidrocarburo que contiene de 2 a 8 átomos de carbono normales, secundarios, terciarios o cíclicos con al menos un sitio de insaturación, es decir, un doble enlace sp^2 carbono-carbono.

"Alquinilo" es un hidrocarburo C_2-C_{18} que contiene átomos de carbono normales, secundarios, terciarios o cíclicos con al menos un sitio de insaturación, es decir, un triple enlace sp carbono-carbono. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a: acetilénico ($-C\equiv CH$) y propargilo ($-CH_2C\equiv CH$). Un "alquinilo C_2-C_8 " es un hidrocarburo que contiene de 2 a 8 átomos de carbono normales, secundarios, terciarios o cíclicos con al menos un sitio de insaturación, es decir, un triple enlace sp carbono-carbono.

"Alquileno" se refiere a un radical hidrocarburo cíclico o de cadena lineal o ramificada saturado de 1-18 átomos de carbono, y que tiene dos centros radicales monovalentes derivados de la retirada de dos átomos de hidrógeno del mismo o dos átomos de carbono diferentes de un alcano original. Los radicales alquileno típicos incluyen, pero no se limitan a: metileno ($-CH_2-$), 1,2-etilo ($-CH_2CH_2-$), 1,3-propilo ($-CH_2CH_2CH_2-$), 1,4-butilo ($-CH_2CH_2CH_2CH_2-$), y similares.

Un "alquileno C_1-C_{10} " es un grupo hidrocarburo saturado de cadena lineal de la fórmula $-(CH_2)_{1-10}-$. Los ejemplos de un alquileno C_1-C_{10} incluyen metileno, etileno, propileno, butileno, pentileno, hexileno, heptileno, octileno, nonileno y decaleno.

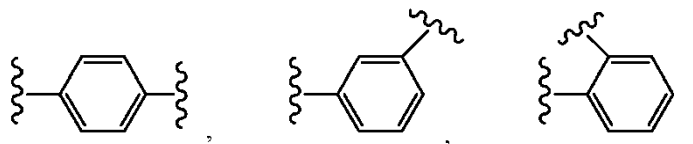
"Alquenileno" se refiere a un radical hidrocarburo cíclico o de cadena lineal o ramificada insaturado de 2-18 átomos de carbono, y que tiene dos centros radicales monovalentes derivados de la retirada de dos átomos de hidrógeno del mismo o dos átomos de carbono diferentes de un alqueno original. Los radicales alquenileno típicos incluyen, pero no se limitan a: 1,2-etileno ($-CH=CH-$).

"Alquinileno" se refiere a un radical hidrocarburo cíclico o de cadena lineal o ramificada insaturado de 2-18 átomos de carbono, y que tiene dos centros radicales monovalentes derivados de la retirada de dos átomos de hidrógeno del mismo o dos átomos de carbono diferentes de un alquino original. Los radicales alquinileno típicos incluyen, pero no se limitan a: acetileno ($-C\equiv C-$), propargilo ($-CH_2C\equiv C-$) y 4-pentinilo ($-CH_2CH_2CH_2C\equiv C-$).

"Ariilo" se refiere a un grupo aromático carbocíclico. Los ejemplos de grupos ariilo incluyen, pero no se limitan a, fenilo, naftilo y antracenilo. Un grupo aromático carbocíclico o un grupo aromático heterocíclico puede estar insustituido o sustituido con uno o más grupos incluyendo, pero sin limitarse a, $-\text{alquilo } C_1-C_8$, $-\text{O}(\text{alquilo } C_1-C_8)$, $-\text{arilo}$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}'$, $-\text{OC}(\text{O})\text{R}'$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}'$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{NHR}'$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}')_2$, $-\text{NHC}(\text{O})\text{R}'$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}'$, $-\text{S}(\text{O})\text{R}'$, $-\text{OH}$, $-\text{halógeno}$, $-\text{N}_3$, $-\text{NH}_2$, $-\text{NH}(\text{R}')$, $-\text{N}(\text{R}')_2$ y $-\text{CN}$; en el que cada R' se selecciona independientemente de H , $-\text{alquilo } C_1-C_8$ y ariilo.

Un "arilo C_5-C_{20} " es un grupo arilo con de 5 a 20 átomos de carbono en los anillos aromáticos carbocíclicos. Los ejemplos de grupos arilo C_5-C_{20} incluyen, pero no se limitan a, fenilo, naftilo y antracenilo. Un grupo arilo C_5-C_{20} puede estar sustituido o insustituido como se describe anteriormente para los grupos arilo. Un "arilo C_5-C_{14} " es un grupo arilo con de 5 a 14 átomos de carbono en los anillos aromáticos carbocíclicos. Los ejemplos de grupos arilo C_5-C_{14} incluyen, pero no se limitan a, fenilo, naftilo y antracenilo. Un grupo arilo C_5-C_{14} puede estar sustituido o insustituido como se describe anteriormente para los grupos arilo.

Un "arileno" es un grupo arilo que tiene dos enlaces covalentes y puede estar en las configuraciones orto, meta o para, como se muestra en las siguientes estructuras:



en el que el grupo fenilo puede estar insustituido o sustituido con hasta cuatro grupos incluyendo, pero sin limitarse a, $-\text{alquilo } C_1-C_8$, $-\text{O}(\text{alquilo } C_1-C_8)$, $-\text{arilo}$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}'$, $-\text{OC}(\text{O})\text{R}'$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}'$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{NHR}'$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}')_2$, $-\text{NHC}(\text{O})\text{R}'$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}'$, $-\text{S}(\text{O})\text{R}'$, $-\text{OH}$, $-\text{halógeno}$, $-\text{N}_3$, $-\text{NH}_2$, $-\text{NH}(\text{R}')$, $-\text{N}(\text{R}')_2$ y $-\text{CN}$; en el que cada R' se selecciona independientemente de H , $-\text{alquilo } C_1-C_8$ y ariilo.

"Ariilalquilo" se refiere a un radical alquilo acíclico en el que uno de los átomos de hidrógeno unidos a un átomo de carbono, típicamente un átomo de carbono terminal o sp^3 , se reemplaza con un radical ariilo. Los grupos ariilalquilo típicos incluyen, pero no se limitan a, bencilo, 2-feniletan-1-ilo, 2-feniletan-1-ilo, naftilmetilo, 2-naftiletan-1-ilo, 2-naftiletan-1-ilo, naftobencilo, 2-naftofeniletan-1-ilo y similares. El grupo ariilalquilo comprende de 6 a 20 átomos de carbono, por ejemplo, el resto alquilo, incluyendo grupos alcanilo, alquenilo o alquinilo, del grupo ariilalquilo es de 1 a 6 átomos de carbono y el resto arilo es de 5 a 14 átomos de carbono.

"Heteroarilalquilo" se refiere a un radical alquilo acíclico en el que uno de los átomos de hidrógeno unidos a un átomo de carbono, típicamente un átomo de carbono terminal o sp^3 , se reemplaza con un radical heteroarilo. Los grupos heteroarilalquilo típicos incluyen, pero no se limitan a, 2-bencimidazolilmetilo, 2-furiletilo y similares. El grupo heteroarilalquilo comprende de 6 a 20 átomos de carbono, por ejemplo, el resto alquilo, incluyendo grupos alcanilo, alquenilo o alquinilo, del grupo heteroarilalquilo es de 1 a 6 átomos de carbono y el resto heteroarilo es de 5 a 14 átomos de carbono y 1 a 3 heteroátomos seleccionados de N, O, P y S. El resto heteroarilo del grupo heteroarilalquilo puede ser un monociclo que tiene de 3 a 7 miembros del anillo (2 a 6 átomos de carbono o un biciclo que tiene de 7 a 10 miembros del anillo (4 a 9 átomos de carbono y 1 a 3 heteroátomos seleccionados de N, O, P y S), por ejemplo: un sistema biciclo [4,5], [5,5], [5,6] o [6,6].

"Alquilo sustituido", "arilo sustituido" y "arilalquilo sustituido" quieren decir alquilo, arilo y arilalquilo respectivamente, en los que uno o más átomos de hidrógeno se reemplazan cada uno independientemente con un sustituyente. Los sustituyentes típicos incluyen, pero no se limitan a, $-X$, $-R$, $-O^-$, $-OR$, $-SR$, $-S^-$, $-NR_2$, $-NR_3$, $=NR$, $-CX_3$, $-CN$, $-OCN$, $-SCN$, $-N=C=O$, $-NCS$, $-NO$, $-NO_2$, $=N_2$, $-N_3$, $NC(=O)R$, $-C(=O)R$, $-C(=O)NR_2$, $-SO_3^-$, $-SO_3H$, $-S(=O)_2R$, $-OS(=O)_2OR$, $-S(=O)_2NR$, $-S(=O)R$, $-OP(=O)(OR)_2$, $-P(=O)(OR)_2$, $-PO_3^-$, $-PO_3H_2$, $-C(=O)R$, $-C(=O)X$, $-C(=S)R$, $-CO_2R$, $-CO_2^-$, $-C(=S)OR$, $-C(=O)SR$, $-C(=S)SR$, $-C(=O)NR_2$, $-C(=S)NR_2$, $-C(=NR)NR_2$, donde cada X es independientemente un halógeno: F, Cl, Br o I; y cada R es independientemente $-H$, alquilo C_2-C_{18} , arilo C_6-C_{20} , heterociclo C_3-C_{14} , grupo protector o resto de profármaco. Los grupos alquileo, alquenileno y alquinileno como se describe anteriormente también pueden estar sustituidos de forma similar.

"Heteroarilo" y "heterociclo" se refieren a un sistema de anillo en el que uno o más átomos de anillo es un heteroátomo, por ejemplo, nitrógeno, oxígeno y azufre. El radical heterociclo comprende de 3 a 20 átomos de carbono y de 1 a 3 heteroátomos seleccionados de N, O, P y S. Un heterociclo puede ser un monociclo que tiene de 3 a 7 miembros de anillo (de 2 a 6 átomos de carbono y de 1 a 3 heteroátomos seleccionados de N, O, P y S) o un biciclo que tiene de 7 a 10 miembros de anillo (de 4 a 9 átomos de carbono y de 1 a 3 heteroátomos seleccionados de N, O, P y S), por ejemplo, un sistema biciclo [4,5], [5,5], [5,6] o [6,6].

Los heterociclos ejemplares se describen, por ejemplo, en Paquette, Leo A., "Principles of Modern Heterocyclic Chemistry" (W.A. Benjamin, New York, 1968), en particular, los capítulos 1, 3, 4, 6, 7 y 9; "The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A series of Monographs" (John Wiley & Sons, New York, 1950 hasta la fecha), en particular, los volúmenes 13, 14, 16, 19 y 28; y *J. Am. Chem. Soc.* (1960) 82:5566.

Los ejemplos de heterociclos incluyen a modo de ejemplo y sin limitación piridilo, dihidropiridilo, tetrahidropiridilo (piperidilo), tiazolilo, tetrahidrotiofenilo, tetrahidrotiofenilo oxidado con azufre, pirimidinilo, furanilo, tienilo, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, tetrazolilo, benzofuranilo, tianaftalenilo, indolilo, indolenilo, quinolinilo, isoquinolinilo, bencimidazolilo, piperidinilo, 4-piperidonilo, pirrolidinilo, 2-pirrolidonilo, pirrolinilo, tetrahidrofuranilo, bis-tetrahidrofuranilo, tetrahidropiranilo, bis-tetrahidropiranilo, tetrahidroquinolinilo, tetrahidroisoquinolinilo, decahidroquinolinilo, octahidroisoquinolinilo, azocinilo, triacinilo, 6H-1,2,5-tiadiazinilo, 2H,6H-1,5,2-ditiazinilo, tienilo, tiantrenilo, piranilo, isobenzofuranilo, cromenilo, xantenilo, fenoxatinilo, 2H-pirrolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, piracinilo, piridacinilo, indolicinilo, isoindolilo, 3H-indolilo, 1H-indazolilo, purinilo, 4H-quinolicinilo, ftalacinilo, naftiridinilo, quinoxalinilo, quinazolinilo, cinnolinilo, pteridinilo, 4aH-carbazolilo, carbazolilo, β -carbolinilo, fenantridinilo, acridinilo, pirimidinilo, fenantridinilo, fenacinilo, fenotiacinilo, furazanilo, fenoxacinilo, isocromanilo, cromanilo, imidazolidinilo, imidazolinilo, pirazolidinilo, pirazolinilo, piperacinilo, indolinilo, isoindolinilo, quinuclidinilo, morfolinilo, oxazolidinilo, benzotriazolilo, bencisoxazolilo, oxindolilo, benzoxazolinilo e isatinoilo.

A modo de ejemplo y sin limitación, los heterociclos unidos por carbono se unen en la posición 2, 3, 4, 5 o 6 de una piridina, posición 3, 4, 5 o 6 de una piridacina, posición 2, 4, 5 o 6 de una pirimidina, posición 2, 3, 5 o 6 de una piracina, posición 2, 3, 4 o 5 de un furano, tetrahidrofurano, tiofurano, tiofeno, pirrol o tetrahidropirrol, posición 2, 4 o 5 de un oxazol, imidazol o tiazol, posición 3, 4 o 5 de un isoxazol, pirazol o isotiazol, posición 2 o 3 de una aciridina, posición 2, 3 o 4 de una acetidina, posición 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 de una quinolina o posición 1, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 de una isoquinolina. Todavía más típicamente, los heterociclos unidos por carbono incluyen 2-piridilo, 3-piridilo, 4-piridilo, 5-piridilo, 6-piridilo, 3-piridacinilo, 4-piridacinilo, 5-piridacinilo, 6-piridacinilo, 2-pirimidinilo, 4-pirimidinilo, 5-pirimidinilo, 6-pirimidinilo, 2-piracinilo, 3-piracinilo, 5-piracinilo, 6-piracinilo, 2-tiazolilo, 4-tiazolilo o 5-tiazolilo.

A modo de ejemplo y sin limitación, los heterociclos unidos a nitrógeno se unen en la posición 1 de una aciridina, acetidina, pirrol, pirrolidina, 2-pirrolina, 3-pirrolina, imidazol, imidazolidina, 2-imidazolina, 3-imidazolina, pirazol, pirazolina, 2-pirazolina, 3-pirazolina, piperidina, piperacina, indol, indolina, 1H-indazol, posición 2 de un isoindol o isoindolina, posición 4 de una morfolina, y posición 9 de un carbazol o β -carbolina. Todavía más típicamente, los heterociclos unidos por nitrógeno incluyen 1-aciridilo, 1-acetedilo, 1-pirrolilo, 1-imidazolilo, 1-pirazolilo y 1-piperidinilo.

Un "heterociclo C_3-C_8 " se refiere a un carbociclo C_3-C_8 aromático o no aromático en el que de uno a cuatro de los átomos de carbono de anillo se reemplazan independientemente con un heteroátomo del grupo que consiste en O, S y N. Los ejemplos representativos de un heterociclo C_3-C_8 incluyen, pero no se limitan a, benzofuranilo, benzotiofeno, indolilo, benzopirazolilo, cumarinilo, isoquinolinilo, pirrolilo, tiofenilo, furanilo, tiazolilo, imidazolilo, pirazolilo, triazolilo, quinolinilo, pirimidinilo, piridinilo, piridonilo, piracinilo, piridacinilo, isotiazolilo, isoxazolilo y tetrazolilo. Un heterociclo

C₃-C₈ puede estar insustituido o sustituido con hasta siete grupos incluyendo, pero sin limitarse a, -alquilo C₁-C₈, -O-(alquilo C₁-C₈), -arilo, -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂-NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, -halógeno, -N₃, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂ y -CN; en el que cada R' se selecciona independientemente de H, -alquilo C₁-C₈ y arilo.

"Heterociclo C₃-C₈" se refiere a un grupo heterociclo C₃-C₈ definido anteriormente en el que uno de los átomos de hidrógeno del grupo heterociclo se reemplaza con un enlace. Un heterociclo C₃-C₈ puede estar insustituido o sustituido con hasta seis grupos incluyendo, pero sin limitarse a, -alquilo C₁-C₈, -O-(alquilo C₁-C₈), -arilo, -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂-NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, -halógeno, -N₃, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂ y -CN; en el que cada R' se selecciona independientemente de H, -alquilo C₁-C₈ y arilo.

A "heterociclo C₃-C₂₀" se refiere a un carbociclo C₃-C₈ aromático o no aromático en el que de uno a cuatro de los átomos de carbono de anillo se reemplazan independientemente con un heteroátomo del grupo que consiste en O, S y N. Un heterociclo C₃-C₂₀ puede estar insustituido o sustituido con hasta siete grupos incluyendo, pero sin limitarse a, -alquilo C₁-C₈, -O-(alquilo C₁-C₈), -arilo, -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂-NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, -halógeno, -N₃, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂ y -CN; en el que cada R' se selecciona independientemente de H, -alquilo C₁-C₈ y arilo.

"Heterociclo C₃-C₂₀" se refiere a un grupo heterociclo C₃-C₂₀ definido anteriormente en el que uno de los átomos de hidrógeno del grupo heterociclo se reemplaza con un enlace.

Carbociclo quiere decir un anillo saturado o insaturado que tiene de 3 a 7 átomos de carbono como monociclo o de 7 a 12 átomos de carbono como biciclo. Los carbociclos monocíclicos tienen de 3 a 6 átomos de anillo, todavía más típicamente 5 o 6 átomos de anillo. Los carbociclos bicíclicos tienen de 7 a 12 átomos de anillo, por ejemplo, dispuestos como un sistema biciclo [4,5], [5,5], [5,6] o [6,6], o 9 o 10 átomos de anillo dispuestos como un sistema biciclo [5,6] o [6,6]. Los ejemplos de carbociclos monocíclicos incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, 1-ciclopent-1-enilo, 1-ciclopent-2-enilo, 1-ciclopent-3-enilo, ciclohexilo, 1-ciclohex-1-enilo, 1-ciclohex-2-enilo, 1-ciclohex-3-enilo, cicloheptilo y ciclooctilo.

Un "carbociclo C₃-C₈" es un anillo carbocíclico no aromático saturado o insaturado de 3, 4, 5, 6, 7 u 8 miembros. Los carbociclos C₃-C₈ representativos incluyen, pero no se limitan a, -ciclopropilo, -ciclobutilo, -ciclopentilo, -ciclopentadienilo, -ciclohexilo, -ciclohexenilo, -1,3-ciclohexadienilo, -1,4-ciclohexadienilo, -cicloheptilo, -1,3-cicloheptadienilo, -1,3,5-cicloheptatrienilo, -ciclooctilo y -ciclooctadienilo. Un grupo carbociclo C₃-C₈ puede estar insustituido o sustituido con uno o más grupos incluyendo, pero sin limitarse a, -alquilo C₁-C₈, -O-(alquilo C₁-C₈), -arilo, -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂-NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, -halógeno, -N₃, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂ y -CN; donde cada R' se selecciona independientemente de H, -alquilo C₁-C₈ y arilo.

Un "carbociclo C₃-C₈" se refiere a un grupo carbociclo C₃-C₈ definido anteriormente en el que uno de los átomos de hidrógeno de los grupos carbociclo se reemplaza con un enlace.

"Conector" se refiere a un resto químico que comprende un enlace covalente o una cadena de átomos que une covalentemente un anticuerpo a un resto de fármaco. En diversos ejemplos, los conectores incluyen un radical divalente tal como un alquildiólo, un arildiólo, un heteroarildiólo, restos tales como: -(CR₂)_nO(CR₂)_n-, unidades de repetición de alquilo (por ejemplo, polietileno, PEG, polimetileno) y alquilamino (por ejemplo, polietilenoamino, Jeffamine™); y éster diácidos y amidas que incluyen succinato, succinamida, diglicolato, malonato y caproamida. Los conectores pueden comprender uno o más residuos aminoácidos, tales como valina, fenilalanina, lisina y homolisina.

El término "quiral" se refiere a las moléculas que tienen la propiedad de no superponerse al compañero imagen especular, mientras que el término "aquiral" se refiere a las moléculas que son superponibles sobre su compañero imagen especular.

El término "estereoisómeros" se refiere a los compuestos que tienen una constitución química idéntica, pero difieren con respecto a la disposición de los átomos o grupos en el espacio.

"Diastereómero" se refiere a un estereoisómero con dos o más centros de quiralidad y no siendo sus moléculas imágenes especulares entre sí. Los diastereómeros tienen diferentes propiedades físicas, por ejemplo, puntos de fusión, puntos de ebullición, propiedades espectrales y reactividades. Las mezclas de diastereómeros se pueden separar con procedimientos analíticos de alta resolución, tales como electroforesis y cromatografía.

"Enantiómeros" se refiere a dos estereoisómeros de un compuesto que son imágenes especulares no superponibles entre sí.

Las definiciones y convenciones estereoquímicas usadas en el presente documento siguen, en general, S. P. Parker, Ed., *McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms* (1984) McGraw-Hill Book Company, New York; y Eliel, E. y Wilen, S., *Stereochemistry of Organic Compounds* (1994) John Wiley & Sons, Inc., New York. Muchos compuestos orgánicos existen en formas ópticamente activas, es decir, tienen la capacidad de girar el plano de la luz polarizada en el plano.

Al describir un compuesto ópticamente activo se usan los prefijos D y L, o R y S, para indicar la configuración absoluta de la molécula sobre su(s) centro(s) quiral(es). Los prefijos d y l o (+) y (-) se emplean para designar el signo de giro de la luz polarizada en el plano por el compuesto, queriendo decir (-) o l que el compuesto es levógiro. Un compuesto con el prefijo (+) o d es dextrógiro. Para una estructura química dada, estos estereoisómeros son idénticos excepto porque son imágenes especulares entre sí. Un estereoisómero específico también se puede denominar enantiómero, y una mezcla de dichos isómeros a menudo se llama mezcla enantiómera. Una mezcla 50:50 de enantiómeros se denomina mezcla racémica o un racemato, lo que se puede producir cuando no haya existido ninguna estereoselección o estereoespecificidad en una reacción o proceso químico. Los términos "mezcla racémica" y "racemato" se refieren a una mezcla equimolar de dos especies enantiómeras carentes de actividad óptica.

"Grupo saliente" se refiere a un grupo funcional que se puede sustituir por otro grupo funcional. Determinados grupos salientes son bien conocidos en la técnica, y los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, un haluro (por ejemplo, cloruro, bromuro, yoduro), metanosulfonilo (mesilo), p-toluenosulfonilo (tosilo), trifluorometilsulfonilo (triflato) y trifluorometilsulfonato.

El término "grupo protector" se refiere a un sustituyente que se emplea comúnmente para bloquear o proteger una funcionalidad particular mientras reaccionan otros grupos funcionales en el compuesto. Por ejemplo, un "grupo protector de amino" es un sustituyente unido a un grupo amino que bloquea o protege la funcionalidad amino en el compuesto. Los grupos protectores de amino adecuados incluyen, pero no se limitan a, acetilo, trifluoroacetilo, t-butoxicarbonilo (BOC), benciloxicarbonilo (CBZ) y 9-fluorenilmetilenoxycarbonilo (Fmoc). Para una descripción general de los grupos protectores y su uso, véase T. W. Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley & Sons, New York, 1991, o una edición posterior.

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

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

A. Usos médicos

En el presente documento se proporcionan usos médicos en los que un inmunocombinado que comprende un anticuerpo anti-CD79b unido a un agente citotóxico es para su uso en un procedimiento para tratar un trastorno proliferativo de linfocitos B en un individuo, en el que el inmunocombinado es polatuzumab vedotin y el procedimiento comprende administrar el inmunocombinado al individuo en combinación con (a) un anticuerpo anti-CD20 que es rituximab u obinutuzumab y (b) un agente alquilante que es bendamustina.

En algunos modos de realización, el agente alquilante es bendamustina. En algunos modos de realización, el inmunocombinado anti-CD79b es huMA79bv28-MC-vc-PAB-MMAE.

En algunos modos de realización, el anticuerpo anti-CD20 es rituximab. En algunos modos de realización, el anticuerpo B-Ly1 humanizado es obinutuzumab.

Un "individuo" de acuerdo con cualquiera de los modos de realización anteriores puede ser un ser humano.

La enfermedad proliferativa de linfocitos B incluye, pero no se limita a, linfomas (por ejemplo, linfomas no hodgkinianos de linfocitos B (LNH)) 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 no Burkitt), c) linfomas de la zona marginal (incluyendo linfoma de linfocitos B de la zona marginal extraganglionar (linfomas de tejido linfático asociado a mucosa, TLAM), linfoma de linfocitos B de la zona marginal ganglionar y linfoma de la zona marginal esplénica), 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 primario mediastínico 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, 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 de gran malignidad recidivante, LNH de escasa malignidad recidivante, LNH resistente al tratamiento, LNH de escasa malignidad resistente al tratamiento, leucemia linfocítica crónica (LLC), linfoma linfocítico de células pequeñas, 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 linfoma folicular de escasa

malignidad o linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL). En algunos modos de realización, el DLBCL es DLBCL de linfocitos B activados (ABC-DLBCL). En algunos modos de realización, el DLBCL es un de linfocitos B como DLBCL de tipo linfocitos B de centros germinales (GCB-DLBCL). En algún modo de realización, el DLBCL es BCL2 positivo (por ejemplo, positivo para el reordenamiento del gen BCL2, t(14;18)(q32;q21)). En algunos modos de realización, el DLBCL es BCL2 negativo (por ejemplo, negativo para el reordenamiento del gen BCL2, t(14;18)(q32;q21)).

En algunos modos de realización, el trastorno proliferativo de linfocitos B es un FL (grado 1, 2 o 3a) o DLBCL confirmado histológicamente. En algunos modos de realización, el individuo ha recibido al menos un tratamiento previo para FL o DLBCL. En algunos modos de realización, el paciente ha recibido bendamustina previa y la duración debe haber sido >1 año (para pacientes que tienen recidiva de la enfermedad después de un régimen previo). En algunos modos de realización, al menos una lesión medible bidimensionalmente en diagnóstico por la imagen definida como > 1,5 cm en su dimensión más larga; disponibilidad confirmada de tejido tumoral de archivo o recién recogido que cumple con las especificaciones definidas por el protocolo antes de la inclusión en el estudio; esperanza de vida de al menos 24 semanas; estado funcional del Grupo Oncológico Cooperativo de la Costa Este (ECOG) de 0, 1 o 2; función hemática adecuada; y/o, para mujeres en edad fértil, un resultado de prueba de embarazo en suero negativo dentro de los 7 días previos al comienzo de la dosificación.

En algunos modos de realización, el individuo no tiene antecedentes de reacciones alérgicas o anafilácticas graves a anticuerpos monoclonales humanizados o murinos (MAb o proteínas de fusión relacionadas con anticuerpos recombinantes) o sensibilidad o alergia conocida a productos murinos, contraindicación a bendamustina, rituximab o obinutuzumab. En algunos modos de realización, el individuo no tiene antecedentes de sensibilidad al manitol, uso previo de ningún MAb, radioinmunoconjugado o conjugado anticuerpo-fármaco (ADC) dentro de las 4 semanas antes del ciclo 1 día 1, tratamiento con radioterapia, quimioterapia, inmunoterapia, tratamiento inmunosupresor y/o cualquier agente de en fase de investigación clínica para los propósitos de tratar el cáncer dentro de las 2 semanas previas al ciclo 1 día 1, uso continuo de corticoesteroides >30 mg/día de prednisona o equivalente, para propósitos distintos al control de síntomas de linfoma, finalización de SCT autólogo dentro de 100 días antes del ciclo 1 día 1, SCT alógeno previo, elegibilidad para SCT autólogo (pacientes con DLBCL recidivante/resistente al tratamiento), FL grado 3b, antecedentes de transformación de enfermedad de escasa malignidad a DLBCL, linfoma de SNC primario, neuropatía periférica actual de grado >1, pruebas de enfermedades concomitantes no controladas significativas que podrían afectar el cumplimiento del protocolo o la interpretación de resultados, incluyendo cardiopatología significativa (tal como cardiopatía de clase III o IV según la Asociación Cardiológica de Nueva York, infarto de miocardio en los últimos 6 meses, arritmias inestables o angina inestable) o neumopatía significativa (incluyendo neumopatía obstructiva y antecedentes de broncoespasmo), infección bacteriana, vírica, fúngica, micobacteriana, parasitaria u otra activa conocida (excluyendo infecciones fúngicas de lechos ungüales) en la inclusión al estudio o cualquier episodio importante de infección que requiere tratamiento con antibióticos intravenosos (i.v.) u hospitalización dentro de las 4 semanas previas al ciclo 1 día 1, pacientes con latencia o sospecha de tuberculosis, resultados de pruebas positivas para infección por virus de la hepatitis B (VHB) crónica o para anticuerpo frente al virus de la hepatitis C (VHC), infección conocida con VIH o virus de la leucemia de linfocitos T humana 1 (HTLV-1), mujeres embarazadas o lactantes o que pretenden quedarse embarazadas dentro de un año de la última dosis de rituximab u obinutuzumab, y/o pruebas de anomalías de laboratorio en pruebas de función renal, hepática o de coagulación estándar.

En algunos modos de realización, el trastorno proliferativo de linfocitos B es un trastorno proliferativo de linfocitos B recidivante o resistente al tratamiento. En algunos modos de realización, el trastorno proliferativo de linfocitos B recidivante o resistente al tratamiento como se usa en el presente documento incluye pacientes que han recibido al menos 1 régimen de tratamiento que contiene quimioterapia previo. En algunos modos de realización, los pacientes con recidiva en general han desarrollado progresión tumoral después de una respuesta al régimen de tratamiento que contiene quimioterapia previo. En algunos modos de realización, los pacientes resistentes al tratamiento en general no responden o han recaído dentro de los 6 del último régimen que contenía quimioterapia previo. En algunos modos de realización, pacientes con linfoma folicular (FL) recidivante/resistente al tratamiento que han recaído a régimen/regímenes previo(s) después de tener antecedentes documentados de respuesta (respuesta completa [RC], RC no confirmada [RCn] o respuesta parcial [RP]) de >=6 meses de duración desde la finalización del/de los régimen/regímenes; resistente al tratamiento a cualquier régimen previo, definido como la no respuesta al tratamiento previo, o progresión dentro de los 6 meses de finalización de la última dosis de tratamiento. En algunos modos de realización, los pacientes con DLBCL recidivante/resistente al tratamiento son pacientes que no son aptos para trasplante de células madre (SCT) de segunda línea, con progresión tumoral o sin respuesta (enfermedad estable [EE]) <6 meses desde el inicio del tratamiento inicial; pacientes que no son aptos para SCT de segunda línea, con recidiva de la enfermedad después de una respuesta inicial de >=6 meses desde el inicio del tratamiento inicial; pacientes que no son aptos para SCT de tercera línea (o más), con progresión tumoral o sin respuesta (EE) <6 meses desde el inicio del tratamiento previo; pacientes que no son aptos para SCT de tercera línea (o más allá) con recidiva de la enfermedad después de una respuesta inicial de >= 6 meses desde el inicio del tratamiento previo.

En algunos modos de realización, el individuo que tiene un trastorno proliferativo de linfocitos B no se ha tratado previamente. En algunos modos de realización, no tratado previamente como se usa en el presente documento incluye pacientes diagnosticados con una enfermedad proliferativa de linfocitos B, pero que, en general, no han recibido quimioterapia o inmunoterapia previa. Los pacientes con antecedentes de urgencia, radioterapia locorregional (por ejemplo, para alivio de los signos o síntomas de compresión) o corticoesteroides se pueden considerar no tratados

previamente.

Un inmunoconjugado proporcionado en el presente documento (y cualquier agente terapéutico adicional) para su uso en cualquiera de los procedimientos terapéuticos descritos en el presente documento se puede administrar por cualquier medio adecuado, incluyendo parenteral, intrapulmonar e intranasal y, si se desea para tratamiento local, administración intralesional. Las infusiones parenterales incluyen administración intramuscular, intravenosa, intraarterial, intraperitoneal o subcutánea. La dosificación puede ser por cualquier vía adecuada, por ejemplo, por inyecciones, tales como inyecciones intravenosas o subcutáneas, dependiendo en parte de si la administración es breve o crónica. En el presente documento se contemplan diversas pautas de dosificación que incluyen, pero sin limitarse a, administraciones únicas o múltiples durante diversos momentos, administración en bolo e infusión intermitente.

En algunos modos de realización, si la administración es intravenosa, el tiempo de infusión inicial para el inmunoconjugado anti-CD79b o el agente terapéutico adicional puede ser mayor que los tiempos de infusión posteriores, por ejemplo, de aproximadamente 90 minutos para la infusión inicial y de aproximadamente 30 minutos para infusiones posteriores (si la infusión inicial se tolera bien).

Los términos "coadministración" o "coadministrar" se refieren a la administración del inmunoconjugado anti-CD79b y el agente terapéutico adicional como dos formulaciones separadas (o como una formulación única). La coadministración puede ser simultánea o secuencial en cualquier orden, en la que preferentemente existe un periodo de tiempo durante el que ambos (o todos los) agentes activos ejercen simultáneamente sus actividades biológicas. El inmunoconjugado anti-CD79b y el agente terapéutico adicional se coadministran de forma simultánea o bien secuencial. En algunos modos de realización, cuando ambos agentes terapéuticos se coadministran secuencialmente, la dosis se administra el mismo día en dos administraciones separadas o bien uno de los agentes se administra el día 1 y el segundo se coadministra del día 2 al día 7, preferentemente del día 2 al 4. Por tanto, en un modo de realización, el término "secuencialmente" quiere decir dentro de los 7 días después de la dosis del primer componente, preferentemente dentro de los 4 días después de la dosis del primer componente; y el término "simultáneamente" quiere decir al mismo tiempo. El término "coadministración" con respecto a las dosis de mantenimiento de dicho inmunoconjugado anti-CD79b y el agente terapéutico adicional quiere decir que las dosis de mantenimiento se pueden coadministrar simultáneamente, si el ciclo de tratamiento es apropiado para ambos fármacos, por ejemplo, cada semana. O bien el inmunoconjugado anti-CD79b se administra, por ejemplo, cada primer a tercer día y el tratamiento adicional se administra cada semana. O bien las dosis de mantenimiento se coadministran secuencialmente, en uno o bien varios días.

Los inmunoconjugados anti-CD79b y agentes terapéuticos adicionales proporcionados en el presente documento para su uso en cualquiera de los procedimientos terapéuticos descritos en el presente documento se formularían, dosificarían y administrarían de una forma consecuente con la buena práctica médica. Los factores que se deben tener en consideración en este contexto incluyen el trastorno particular que se está tratando, el mamífero particular que se está tratando, la afección clínica del paciente individual, la causa del trastorno, el sitio de administración del agente, el procedimiento de administración, la programación de la administración y otros factores conocidos por los médicos. El inmunoconjugado no lo necesita, pero opcionalmente se formula con uno o más agentes usados actualmente para prevenir o tratar el trastorno en cuestión.

La cantidad de coadministración del inmunoconjugado anti-CD79b y el agente terapéutico adicional y el momento de coadministración dependerán del tipo (especie, género, edad, peso, etc.) y estado del paciente que se está tratando y la gravedad de la enfermedad o afección que se está tratando. El inmunoconjugado anti-CD79b y el agente terapéutico adicional se coadministran adecuadamente al paciente de una vez o durante una serie de tratamientos, por ejemplo, el mismo día o al día siguiente.

En algunos modos de realización, la dosificación de inmunoconjugado anti-CD79b (tal como huMA79bv28-MC-vc-PAB-MMAE) está entre aproximadamente cualquiera de 1,4-5 mg/kg, 1,8-4 mg/kg, 1,8-3,2 mg/kg, y/o 1,8-2,4 mg/kg. En algunos modos de realización, la dosificación de inmunoconjugado anti-CD79 es aproximadamente cualquiera de 1,4, 1,8, 2,0, 2,2, 2,4, 2,8, 3,2, 3,6, 4,0, 4,4 y/o 4,8 mg/kg. En algunos modos de realización, la dosificación de inmunoconjugado anti-CD79b es de aproximadamente 1,8 mg/kg. En algunos modos de realización, la dosificación de inmunoconjugado anti-CD79b es de aproximadamente 2,4 mg/kg. En algunos modos de realización, la dosificación de inmunoconjugado anti-CD79b es de aproximadamente 3,2 mg/kg. En algunos modos de realización, la dosificación de inmunoconjugado anti-CD79b es de aproximadamente 3,6 mg/kg. En algunos modos de realización de cualquiera de los procedimientos, el inmunoconjugado anti-CD79b se administra *q3wk* (cada 3 semanas). En algunos modos de realización, el inmunoconjugado anti-CD79b se administra por medio de infusión intravenosa. La dosificación administrada por medio de infusión está en el intervalo de aproximadamente 1 µg/m² a aproximadamente 10.000 µg/m² por dosis, en general una dosis por semana durante un total de una, dos, tres o cuatro dosis. De forma alternativa, el intervalo de dosificación es de aproximadamente 1 µg/m² a aproximadamente 1000 µg/m², de aproximadamente 1 µg/m² a aproximadamente 800 µg/m², de aproximadamente 1 µg/m² a aproximadamente 600 µg/m², de aproximadamente 1 µg/m² a aproximadamente 400 µg/m², de aproximadamente 10 µg/m² a aproximadamente 500 µg/m², de aproximadamente 10 µg/m² a aproximadamente 300 µg/m², de aproximadamente 10 µg/m² a aproximadamente 200 µg/m² y de aproximadamente 1 µg/m² a aproximadamente 200 µg/m². La dosis

se puede administrar una vez al día, una vez a la semana, múltiples veces a la semana pero menos de una vez al día, múltiples veces al mes pero menos de una vez al día, múltiples veces al mes pero menos de una vez a la semana, una vez al mes o intermitentemente para remediar o aliviar los síntomas de la enfermedad. La administración puede continuar en cualquiera de los intervalos divulgados hasta la remisión del tumor o síntomas del linfoma o leucemia que se está tratando. La administración puede continuar después de que se logra la remisión o alivio de los síntomas cuando dicha remisión o alivio se prolonga por dicha administración continuada.

En algunos modos de realización, la dosificación del anticuerpo anti-CD20 está entre aproximadamente 300-1600 mg/m² y/o 300-2000 mg. En algunos modos de realización, la dosificación del anticuerpo anti-CD20 es aproximadamente cualquiera de 300, 375, 600, 1000 o 1250 mg/m² y/o 300, 1000 o 2000 mg. En algunos modos de realización, el anticuerpo anti-CD20 es rituximab y la dosificación administrada es de 375 mg/m². En algunos modos de realización, el anticuerpo anti-CD20 es obinutuzumab y la dosificación administrada es de 1000 mg/m². En algunos modos de realización, el anticuerpo anti-CD20 se administra *q3wk*. En algunos modos de realización, la dosificación de dicho anticuerpo anti-CD20 afucosilado (preferentemente el anticuerpo B-Ly1 humanizado afucosilado) puede ser de 800 a 1600 mg (en un modo de realización de 800 a 1200 mg) el día 1, 8, 15 de un ciclo de dosificación de 3 a 6 semanas y a continuación en una dosificación de 400 a 1200 (en un modo de realización de 800 a 1200 mg) el día 1 de hasta nueve ciclos de dosificación de 3 a 4 semanas. En algunos modos de realización, la dosis es una dosis fija de 1000 mg en una pauta de dosificación de tres semanas, con la posibilidad de un ciclo adicional de una dosis fija de 1000 mg la segunda semana.

Los regímenes de dosificación ejemplares para la politerapia de inmunoconjugados anti-CD79b (tales como huMA79bv28-MC-vc-PAB-MMAE) y otros agentes incluyen, pero no se limitan a, inmunoconjugado anti-CD79 (tal como huMA79bv28-MC-vc-PAB-MMAE) administrado a aproximadamente 1,4-5 mg/kg *q3wk*, más 375 mg/m² *q3wk* de rituximab, y 25-120 mg/m² de bendamustina (por ejemplo, clorhidrato de bendamustina) a diario d1 y 2 de *q3wk*. En algunos modos de realización, el inmunoconjugado anti-CD79 se administra a aproximadamente cualquiera de 1,8 mg/kg, 2,0 mg/kg, 2,2 mg/kg, 2,4 mg/kg, 3,2 mg/kg o 4,0 mg/kg. En algunos modos de realización, el inmunoconjugado anti-CD79b se administra a aproximadamente 1,8 mg/kg. En algunos modos de realización, el inmunoconjugado anti-CD79b se administra a aproximadamente 2,4 mg/kg. En algunos modos de realización, la bendamustina se administra a aproximadamente 90 mg/m².

Otro régimen de dosificación ejemplar para la politerapia de inmunoconjugados anti-CD79b (tales como huMA79bv28-MC-vc-PAB-MMAE) y otros agentes incluyen, pero no se limitan a, inmunoconjugado anti-CD79 (tal como huMA79bv28-MC-vc-PAB-MMAE) administrado 1,4-5 mg/kg *q3wk*, más 1000 mg/m² *q3wk* de obinutuzumab, y 25-120 mg/m² de bendamustina a diario d1 y 2 de *q3wk*. En algunos modos de realización, el inmunoconjugado anti-CD79 se administra a aproximadamente cualquiera de 1,8 mg/kg, 2,0 mg/kg, 2,2 mg/kg, 2,4 mg/kg, 3,2 mg/kg o 4,0 mg/kg. En algunos modos de realización, el inmunoconjugado anti-CD79b se administra a aproximadamente 1,8 mg/kg. En algunos modos de realización, el inmunoconjugado anti-CD79b se administra a aproximadamente 2,4 mg/kg. En algunos modos de realización, la bendamustina se administra a aproximadamente 90 mg/m².

B. Agentes para su uso en los procedimientos descritos en el presente documento

En el presente documento se proporcionan inmunoconjugados anti-CD79b y agentes terapéuticos adicionales para su uso en los procedimientos descritos en el presente documento. En algunos modos de realización, el agente terapéutico adicional es un anticuerpo anti-CD20 y bendamustina como se establece en las reivindicaciones.

1. Inmunoconjugados anti-CD79b que comprenden anticuerpos anti-CD79b y otros modos de realización

En el presente documento se proporcionan anticuerpos anti-CD79b para los inmunoconjugados anti-CD79b para su uso en los procedimientos descritos en el presente documento que comprenden inmunoconjugados anti-CD79b y un agente terapéutico adicional.

También se describe un inmunoconjugado que comprende un anticuerpo anti-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: 21; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23; (d) HVR-L1 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26. En algunos de dichos modos de realización, el inmunoconjugado comprende al menos uno de: (i) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23, y/o (ii) HVR-L1 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24.

También se describen inmunoconjugados que comprenden un anticuerpo anti-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: 21; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23; (d) HVR-L1 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26. En algunos de dichos ejemplos, el

inmunoconjugado comprende al menos uno de: (i) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23, y/o (ii) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24. En un aspecto, en el presente documento se proporcionan inmunoconjugados que comprenden un inmunoconjugado anti-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: 21; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22; y (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23. En algunos ejemplos, el inmunoconjugado comprende HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23. En otro ejemplo, el inmunoconjugado comprende HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23, y HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26. En otro ejemplo, el inmunoconjugado comprende HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23, HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26, y HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22. En otro ejemplo, el inmunoconjugado comprende (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22; y (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23.

En un ejemplo, el inmunoconjugado comprende un anticuerpo anti-CD79b que comprende al menos una, al menos dos, o las tres secuencias HVR de VL seleccionadas de (a) HVR-L1 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26. En otro aspecto, en el presente documento se proporcionan inmunoconjugados que comprenden 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: 24; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26. En un ejemplo, el inmunoconjugado comprende (a) HVR-L1, que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26. En algunos ejemplos, el inmunoconjugado comprende HVR-L1 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24. En algunos ejemplos, el inmunoconjugado comprende HVR-L1 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24. En algunos ejemplos, el inmunoconjugado comprende (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26.

En un ejemplo, el inmunoconjugado comprende un anticuerpo anti-CD79b que comprende (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: 21, (ii) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22, y (iii) HVR-H3, que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 23; 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 una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24, (ii) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25, y (iii) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26. En algunos de dichos ejemplos, el inmunoconjugado comprende al menos uno de: (i) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23, y/o (ii) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24.

En otro aspecto, en el presente documento se proporcionan inmunoconjugados que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23; (d) HVR-L1 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26. En algunos de dichos ejemplos, el inmunoconjugado comprende al menos uno de: HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23 y/o HVR-L1 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24. En otro aspecto, se proporcionan inmunoconjugados que comprenden (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26.

En cualquiera de los modos de realización anteriores, el inmunoconjugado anti-CD79b comprende un anticuerpo anti-CD79b humanizado. En un ejemplo, un anticuerpo anti-CD79b comprende HVR como en cualquiera de los modos de realización anteriores, y comprende además una región estructural aceptora humana, por ejemplo, una región estructural de inmunoglobulina humana o región estructural consenso humana. En determinados ejemplos, la región estructural aceptora humana es la región estructural de VL kappa 1 (VL_{K1}) humana y/o la región estructural de VH VH_{III}. En algunos ejemplos, un anticuerpo anti-CD79b humanizado comprende (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23; (d) HVR-L1 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26. En algunos ejemplos, un anticuerpo anti-CD79b humanizado comprende (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21; (b)

HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22; (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23; (d) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24; (e) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25; y (f) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26.

En un ejemplo, un inmunoconjugado 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 la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19. En determinados ejemplos, una secuencia de VH que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19 contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o deleciones en relación con la secuencia de referencia, pero un inmunoconjugado anti-CD79b que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a CD79b. En determinados modos de realización, se han sustituido, insertado y/o deleccionado un total de 1 a 10 aminoácidos en SEQ ID NO: 19. En determinados ejemplos, se han sustituido, insertado y/o deleccionado un total de 1 a 5 aminoácidos en SEQ ID NO: 19. En determinados ejemplos, las sustituciones, inserciones o deleciones se producen en regiones fuera de las HVR (es decir, en las FR).

Opcionalmente, el inmunoconjugado anti-CD79b comprende la secuencia de VH de una cualquiera de SEQ ID NO: 19, incluyendo modificaciones postraduccionales de esa secuencia. En algunos ejemplos, el inmunoconjugado anti-CD79b comprende la secuencia de VH de SEQ ID NO: 19, incluyendo modificaciones postraduccionales de esa secuencia. En un aspecto particular, el VH comprende una, dos o tres HVR seleccionadas de: (a) HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21; (b) HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22; y (c) HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 o SEQ ID NO: 23.

En algunos ejemplos, un inmunoconjugado anti-CD79b 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 la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20. En determinados ejemplos, una secuencia de VL que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o deleciones en relación con la secuencia de referencia, pero un inmunoconjugado anti-CD79b que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a CD79b. En determinados ejemplos, se han sustituido, insertado y/o deleccionado un total de 1 a 10 aminoácidos en SEQ ID NO: 20. En determinados modos de realización, se han sustituido, insertado y/o deleccionado un total de 1 a 5 aminoácidos en SEQ ID NO: 20. En determinados ejemplos, las sustituciones, inserciones o deleciones se producen en regiones fuera de las HVR (es decir, en las FR). Opcionalmente, el inmunoconjugado anti-CD79b comprende la secuencia de VL de una cualquiera de SEQ ID NO: 20, incluyendo modificaciones postraduccionales de esa secuencia. En algunos ejemplos, el inmunoconjugado anti-CD79b comprende la secuencia de VL de SEQ ID NO: 20, incluyendo modificaciones postraduccionales de esa secuencia. En un ejemplo particular, el VL comprende una, dos o tres HVR seleccionadas de (a) HVR-L1 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26. En algunos modos de realización, el VL comprende una, dos o tres HVR seleccionadas de (a) HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24; (b) HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25; y (c) HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26.

En otro aspecto, un inmunoconjugado anti-CD79b comprende un VH como en cualquiera de los ejemplos, proporcionados anteriormente, y un VL como en cualquiera de los modos de realización proporcionados anteriormente. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende las secuencias de VH y VL en SEQ ID NO: 19 y SEQ ID NO: 20, respectivamente, incluyendo modificaciones postraduccionales de esas secuencias.

En otro aspecto, en el presente documento se proporcionan inmunoconjugados anti-CD79b que se unen al mismo epítipo que un anticuerpo anti-CD79b proporcionado en el presente documento. Por ejemplo, en determinados ejemplos, se proporciona un inmunoconjugado 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.

2. Anticuerpos anti-CD20 y otros modos de realización

En el presente documento se proporcionan anticuerpos anti-CD20 para su uso en los procedimientos descritos en el presente documento que comprenden inmunoconjugados anti-CD79b y un agente terapéutico adicional.

Dependiendo de las propiedades de unión y las actividades biológicas de los anticuerpos anti-CD20 con respecto al antígeno CD20, se pueden distinguir dos tipos de anticuerpos anti-CD20 (anticuerpos anti-CD20 de tipo I y tipo II) de acuerdo con Cragg, M.S., *et al.*, Blood 103 (2004) 2738-2743; y Cragg, M.S., *et al.*, Blood 101 (2003) 1045-1052, véase la tabla 1.

Tabla 1: Propiedades de anticuerpos anti-CD20 de tipo I y tipo II

Anticuerpos anti-CD20 de tipo I	Anticuerpos anti-CD20 de tipo II
epítipo de CD20 de tipo I	epítipo de CD20 de tipo II
Localizan CD20 en balsas lipídicas	No localizan CD20 en balsas lipídicas
Incremento en CDC (si es isotipo IgG1)	Disminución en CDC (si es isotipo IgG1)
Anticuerpos anti-CD20 de tipo I	Anticuerpos anti-CD20 de tipo II
Actividad ADCC (si es isotipo IgG1)	Actividad ADCC (si es isotipo IgG1)
Capacidad de unión completa	Reducción en la capacidad de unión
Agregación homotípica	Agregación homotípica más fuerte
Inducción de apoptosis tras reticulación	Inducción de muerte celular fuerte sin reticulación

Los ejemplos de anticuerpos anti CD20 de tipo I incluyen el anticuerpo rituximab. En algunos modos de realización, el anticuerpo rituximab (anticuerpo de referencia; ejemplo de un anticuerpo anti-CD20 de tipo I) es un dominio constante murino gamma 1 humano quimérico genomanipulado que contiene un anticuerpo monoclonal dirigido frente al antígeno CD20 humano. Sin embargo, este anticuerpo no se glucomanipula ni se afucosila y por tanto tiene una cantidad de fucosa de al menos un 85 %. Este anticuerpo quimérico contiene dominios constantes gamma 1 humanos y se identifica por el nombre "C2B8" en el documento US 5.736.137 (Andersen, *et. al.*) publicado el 17 de abril de 1998, cedido a IDEC Pharmaceuticals Corporation. Rituximab está aprobado para el tratamiento de pacientes con linfoma no hodgkiniano de linfocitos B, positivo para CD20, de escasa malignidad o folicular y recidivante o resistente al tratamiento. Los estudios del mecanismo de acción *in vitro* han demostrado que rituximab presenta citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) humano (Reff, M.E., *et. al.*, *Blood* 83(2) (1994) 435-445). Adicionalmente, presenta una actividad significativa en ensayos que miden la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC).

En algunos modos de realización, los anticuerpos anti-CD20 son un anticuerpo anti-CD20 afucosilado.

En algunos modos de realización, el anticuerpo anti-CD20 es el anticuerpo GA101. En algunos modos de realización, el anticuerpo GA101 como se usa en el presente documento se refiere a uno cualquiera de los siguientes anticuerpos que se unen a CD20 humano: (1) un anticuerpo que comprende una HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5, una HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:6, una HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7, una HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:8, una HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9 y una HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10; (2) un anticuerpo que comprende un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11 y un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12, (3) un anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 y una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14; (4) un anticuerpo conocido como obinutuzumab, o (5) un anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:13 y que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14. En un modo de realización, el anticuerpo GA101 es un anticuerpo de isotipo IgG1.

La "proporción de las capacidades de unión a CD20 en células Raji (n.º ATCC CCL-86) de anticuerpos anti-CD20 en comparación con rituximab" se determina por medición de inmunofluorescencia directa (se mide la intensidad de fluorescencia media (MFI)) usando dicho anticuerpo anti-CD20 conjugado con Cy5 y rituximab conjugado con Cy5 en una FACSArray (Becton Dickinson) con células Raji (n.º ATCC CCL-86), como se describe en el ejemplo n.º 2, y se calcula como sigue:

$$\text{Proporción de las capacidades de unión a CD20 en células Raji (n.º ATCC CCL - 86)} = \frac{\text{MFI}(\text{Cy5} - \text{anticuerpo anti-CD20})}{\text{MFI}(\text{Cy5} - \text{rituximab})} \times \frac{\text{proporción de marcaje de Cy5}(\text{Cy5} - \text{rituximab})}{\text{proporción de marcaje de Cy5}(\text{Cy5} - \text{anticuerpo anti-CD20})}$$

La MFI es la media de la intensidad de fluorescencia. La "proporción de marcaje de Cy5" como se usa en el presente documento quiere decir el número de moléculas de marcador Cy5 por molécula de anticuerpo.

Típicamente, dicho anticuerpo anti-CD20 de tipo II tiene una proporción de las capacidades de unión a CD20 en células Raji (n.º ATCC CCL-86) de dicho segundo anticuerpo anti-CD20 en comparación con rituximab de 0,3 a 0,6, y en un modo de realización, de 0,35 a 0,55, y aún en otro modo de realización, de 0,4 a 0,5.

Por "anticuerpo que tiene un incremento en la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (ADCC)" se quiere decir un anticuerpo, como se define ese término en el presente documento, que tiene un incremento en la ADCC como se determina por cualquier procedimiento adecuado conocido por los expertos en la técnica.

Un ensayo de ADCC *in vitro* aceptado es como sigue:

1) el ensayo usa células diana que son conocidas por expresar el antígeno diana reconocido por la región de unión a antígeno del anticuerpo;

2) el ensayo usa células mononucleares de sangre periférica (PBMC) humanas, aisladas de sangre de un donante sano elegido al azar, como células efectoras;

3) se lleva a cabo el ensayo de acuerdo con el siguiente protocolo:

i) se aíslan las PBMC usando procedimientos de centrifugación por densidad estándar y se suspenden a 5×10^6 células/ml en medio de cultivo celular RPMI;

ii) se cultivan las células diana por procedimientos de cultivo tisular estándar, se recogen de la fase de crecimiento exponencial con una viabilidad mayor de un 90 %, se lavan en medio de cultivo celular RPMI, se marcan con 100 microcurios de ^{51}Cr , se lavan dos veces con medio de cultivo celular y se resuspenden en medio de cultivo celular a una densidad de 10^5 células/ml;

iii) se transfieren 100 microlitros de la suspensión de células diana final anterior a cada pocillo de una placa de microvaloración de 96 pocillos;

iv) se diluye el anticuerpo en serie de 4000 ng/ml a 0,04 ng/ml en medio de cultivo celular y se añaden 50 microlitros de las soluciones de anticuerpo resultantes a las células diana en la placa de microvaloración de 96 pocillos, sometiendo a prueba por triplicado diversas concentraciones de anticuerpo que abarcan todo el intervalo de concentraciones anterior;

v) para los controles de liberación máxima (MR), 3 pocillos adicionales en la placa que contiene las células diana marcadas reciben 50 microlitros de una solución acuosa al 2 % (VN) de un detergente no iónico (Nonidet, Sigma, St. Louis), en lugar de la solución de anticuerpo (punto iv anterior);

vi) para los controles de liberación espontánea (SR), 3 pocillos adicionales en la placa que contiene las células diana marcadas reciben 50 microlitros de medio de cultivo celular RPMI en lugar de la solución de anticuerpo (punto iv anterior);

vii) a continuación, se centrifuga la placa de microvaloración de 96 pocillos a $50 \times g$ durante 1 minuto y se incuba durante 1 hora a 4°C ;

viii) se añaden 50 microlitros de la suspensión de PBMC (punto i anterior) a cada pocillo para proporcionar una proporción de células efectoras:diana de 25:1 y se disponen las placas en una estufa de incubación en una atmósfera con CO_2 al 5 % a 37°C durante 4 horas;

ix) se recoge el sobrenadante sin células de cada pocillo y se cuantifica la radioactividad liberada experimentalmente (ER) usando un contador gamma;

x) se calcula el porcentaje de lisis específica para cada concentración de anticuerpo de acuerdo con la fórmula $(\text{ER}-\text{MR})/(\text{MR}-\text{SR}) \times 100$, donde ER es la radioactividad promedio cuantificada (véase el punto ix anterior) para esa concentración de anticuerpo, MR es la radioactividad promedio cuantificada (véase el punto ix anterior) para los controles de MR (véase el punto V anterior) y SR es la radioactividad promedio cuantificada (véase el punto ix anterior) para los controles de SR (véase el punto vi anterior);

4) la "ADCC incrementada" se define como un incremento en el porcentaje máximo de lisis específica observada dentro del intervalo de concentraciones de anticuerpo sometido a prueba anterior y/o bien una reducción en la concentración de anticuerpo requerida para lograr la mitad del porcentaje máximo de lisis específica observada dentro del intervalo de concentraciones de anticuerpo sometido a prueba anterior. En un modo de realización, el incremento en ADCC es relativo a la ADCC, medido con el ensayo anterior, mediado por el mismo anticuerpo, producido por el mismo tipo de células huésped, usando los mismos procedimientos estándar de producción, purificación, formulación y almacenamiento, que son conocidos por los expertos en la técnica, excepto que el anticuerpo de comparación (que carece del incremento en ADCC) no se ha producido por células huésped genomanipuladas para sobreexpresar GnTIII y/o genomanipuladas para tener una reducción en la expresión del gen de la fucosiltransferasa 8 (FUT8) (por ejemplo, incluyendo, genomanipuladas para la inactivación de FUT8).

En algunos casos, el "incremento en ADCC" se puede obtener, por ejemplo, por mutación y/o glucomanipulación de dichos anticuerpos. En un ejemplo, el anticuerpo se glucomanipula para tener un oligosacárido biantenarío unido a la región Fc del anticuerpo que se biseca por GlcNAc. En otro ejemplo, el anticuerpo se glucomanipula para que carezca de fucosa en el carbohidrato unido a la región Fc expresando el anticuerpo en una célula huésped que es carente de fucosilación de proteínas (por ejemplo, células Lec13 CHO o células que tienen un gen alfa-1,6-fucosiltransferasa

(FUT8) deletado o la expresión del gen FUT atenuada). Aún en otro ejemplo, la secuencia de anticuerpo se ha genomanipulado en su región Fc para potenciar la ADCC (por ejemplo, en un modo de realización, dicha variante de anticuerpo genomanipulada comprende una región Fc con una o más sustituciones aminoacídicas en las posiciones 298, 333 y/o 334 de la región Fc (numeración EU de residuos)).

En algunos ejemplos, el término "citotoxicidad dependiente del complemento (CDC)" se refiere a la lisis de células diana tumorales humanas por el anticuerpo de acuerdo con la invención en presencia de complemento. La CDC se puede medir por el tratamiento de una preparación de células que expresan CD20 con un anticuerpo anti-CD20 de acuerdo con la invención en presencia de complemento. La CDC se encuentra si el anticuerpo induce a una concentración de 100 nM la lisis (muerte celular) de un 20 % o más de las células tumorales después de 4 horas. En un ejemplo, el ensayo se realiza con células tumorales marcadas con ^{51}Cr o Eu y la medición de ^{51}Cr o Eu liberado. Los controles incluyen la incubación de células diana tumorales con complemento pero sin el anticuerpo.

1. Afinidad de anticuerpos

En determinados ejemplos, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene una constante de disociación (K_d) de $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 50 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 5 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, $\leq 0,1 \text{ nM}$, $\leq 0,01 \text{ nM}$, o $\leq 0,001 \text{ nM}$, y opcionalmente es $\geq 10^{-13} \text{ M}$. (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 modo de realización, K_d se mide por un ensayo de unión a antígeno radiomarcado (RIA) realizado con la versión Fab de un anticuerpo de interés y su antígeno como se describe por el siguiente ensayo. La afinidad de unión en solución de Fabs por el antígeno se mide equilibrando Fab con una concentración mínima de antígeno marcado con (^{125}I) en presencia de una serie de valoración de antígeno no marcado, a continuación capturando 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 $\mu\text{g/ml}$ de un anticuerpo anti-Fab de captura (Cappel Labs) en carbonato de sodio 50 mM (pH 9,6) y posteriormente se bloquea con soroalbúmina bovina al 2 % (p/v) en PBS durante dos a cinco horas a temperatura ambiente (aproximadamente 23 °C). En una placa no adsorbente (Nunc n.º 269620), se mezclan [^{125}I]-antígeno 100 pM o 26 pM con diluciones en serie de un Fab de interés (por ejemplo, consecuente con la evaluación del anticuerpo anti-VEGF, Fab-12, en Presta *et al.*, Cancer Res. 57:4593-4599 (1997)). A continuación, se incuba el Fab de interés 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 se lava la placa ocho veces con polisorbato 20 (TWEEN-20®) al 0,1 % en PBS. Cuando las placas se han secado, se añaden 150 $\mu\text{l/pocillo}$ 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.

A modo de ejemplo, K_d se mide usando ensayos de resonancia de plasmón superficial usando BIACORE®-2000 o BIACORE®-3000 (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ) a 25 °C con micromatrices CM5 de antígeno inmovilizado a ~10 unidades de respuesta (UR). En resumen, se activan micromatrices de biosensor de 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, a 5 $\mu\text{g/ml}$ (~0,2 μM) antes de su inyección a un caudal de 5 $\mu\text{l/minuto}$ para lograr aproximadamente 10 unidades de respuesta (UR) de proteína acoplada. Después de la inyección del antígeno, se inyecta etanolamina 1 M para bloquear los grupos sin reaccionar. Para las mediciones cinéticas, se inyectan diluciones en serie de 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 $\mu\text{l/min}$. Se calculan las velocidades de asociación (k_{as}) y velocidades de disociación (k_{dis}) usando un modelo de Langmuir de unión uno a uno sencillo (programa informático de evaluación de BIACORE® versión 3.2) ajustando simultáneamente el sensograma de asociación y disociación. La constante de disociación en equilibrio (K_d) se calcula como la proporción $k_{\text{dis}}/k_{\text{as}}$. Véase, por ejemplo, Chen *et al.*, J. Mol. Biol. 293:865-881 (1999). Si la tasa de asociación excede $10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ por 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 anti-antígeno 20 nM (forma Fab) en PBS, pH 7,2, en presencia de concentraciones crecientes de antígeno medida 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 ejemplos, un anticuerpo proporcionado en el presente documento es un fragmento de anticuerpo. Los fragmentos de anticuerpo incluyen, pero no se limitan a, 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, Rosenberg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York), p. 269-315 (1994); véanse también el documento WO 93/16185; y las patentes de EE. UU. n.º 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 a receptor de rescate y que tienen una semivida *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, los documentos EP 404.097; 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 modos de realización, 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 B1).

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

3. Anticuerpos quiméricos y humanizados

En determinados ejemplos, un anticuerpo proporcionado en el presente documento es un anticuerpo quimérico. Determinados anticuerpos quiméricos se describen, 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 "con cambio de clase" en el que se ha cambiado la clase o subclase con respecto a la del anticuerpo original. Los anticuerpos quiméricos incluyen fragmentos de unión a antígeno de los mismos.

En determinados ejemplos, un anticuerpo quimérico es un anticuerpo humanizado. Típicamente, un anticuerpo no humano se humaniza para reducir la inmunogenicidad en humanos, mientras conserva 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 prepararlos 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.º 5.821.337, 7.527.791, 6.982.321 y 7.087.409; Kashmiri *et al.*, *Methods* 36:25-34 (2005) (que describe el injerto SDR (a-CDR)); Padlan, *Mol. Immunol.* 28:489-498 (1991) (que describe el "rebarnizado"); Dall'Acqua *et al.*, *Methods* 36:43-60 (2005) (que describe el "reordenamiento 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 reordenamiento 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 maduras (mutadas somáticamente) humanas o regiones estructurales de la línea 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 ejemplos, 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 anticuerpos humanos en general en van Dijk y van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5: 368-74 (2001) y Lonberg, *Curr. Opin. Immunol.* 20:450-459 (2008).

Los anticuerpos humanos se pueden preparar administrando un inmunógeno a un animal transgénico que se ha modificado para producir anticuerpos humanos inalterados o anticuerpos inalterados con regiones variables humanas en respuesta a una exposición antigénica. Dichos animales contienen típicamente todo o una parte 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, por combinación con una región constante humana diferente.

También se pueden preparar anticuerpos humanos por procedimientos basados en hibridoma. Se han descrito líneas celulares de mieloma humano y 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., New 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 de líneas de células de hibridoma) y Ni, *Xiandai Mianyixue*, 26(4):265-268 (2006) (que describe hibridomas humano-humano). 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 anticuerpos cribando colecciones combinatorias para determinar los anticuerpos con la actividad o actividades deseadas. Por ejemplo, una variedad de procedimientos son conocidos en la técnica para generar colecciones de presentación en fagos y cribar dichas colecciones para determinar los anticuerpos que poseen 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 por 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 alta afinidad por el inmunógeno sin el requisito 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 propios y también no propios sin ninguna inmunización como se describe por Griffiths *et al.*, *EMBO J.*, 12: 725-734 (1993). Finalmente, también se pueden preparar sintéticamente 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-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 ejemplos, un anticuerpo proporcionado en el presente documento es un anticuerpo multiespecífico, por ejemplo, un anticuerpo biespecífico es útil en un procedimiento descrito en el presente documento. Los anticuerpos multiespecíficos son anticuerpos monoclonales que tienen especificidades de unión por al menos dos sitios diferentes. En determinados ejemplos, una de las especificidades de unión es para un antígeno (por ejemplo, CD79b) y la otra es para cualquier otro antígeno. En determinados modos de realización, una de las especificidades de unión es para un antígeno (por ejemplo, CD79b) y la otra es para CD3. Véase, por ejemplo la patente de EE. UU. n.º 5.821.337. En

determinados ejemplos, los anticuerpos biespecíficos pueden unirse a dos epítopos diferentes de un antígeno (por ejemplo, CD79b). Los anticuerpos biespecíficos también se pueden usar para localizar agentes citotóxicos para células que expresan el antígeno (por ejemplo, CD79b). Se pueden preparar anticuerpos biespecíficos como anticuerpos de longitud completa o fragmentos de anticuerpo.

Las técnicas para preparar anticuerpos multiespecíficos incluyen, pero no se limitan a, coexpresión recombinante de dos pares de cadena pesada-cadena ligera de inmunoglobulina que tienen especificidades diferentes (véanse Milstein y Cuello, *Nature* 305: 537 (1983)), documento WO 93/08829, y Traunecker *et al.*, *EMBO J.* 10: 3655 (1991)), y genomanipulación por "botón en ojal" (véase, por ejemplo, la patente de EE. UU. n.º 5.731.168). Los anticuerpos multiespecíficos también se pueden preparar genomanipulando los efectos de conducción electrostática para preparar moléculas heterodímeras de Fc de anticuerpos (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 leucina para producir anticuerpos biespecíficos (véase, por ejemplo, Kostelny *et al.*, *J. Immunol.*, 148(5):1547-1553 (1992)); usando tecnología de "diacuerpos" para preparar fragmentos de anticuerpos biespecíficos (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 triespecíficos 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 ejemplos, 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. Se pueden preparar variantes de secuencia de aminoácidos de un anticuerpo introduciendo modificaciones apropiadas en la secuencia de nucleótidos que codifica el anticuerpo o por síntesis peptídica. Dichas modificaciones incluyen, por ejemplo, deleciones de, y/o inserciones en y/o sustituciones de residuos dentro de 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 ejemplos, se proporcionan variantes de anticuerpo que tienen una o más sustituciones aminoacídicas. 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 aminoácidos. Se pueden introducir sustituciones aminoacídicas en un anticuerpo de interés y cribar los productos para determinar una actividad deseada, por ejemplo, conservación/mejora de unión a antígeno, disminución en inmunogenicidad, o mejora en ADCC o CDC.

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
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

Residuo original	Sustituciones ejemplares	Sustituciones preferentes
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 conllevarán 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 estudio adicional tendrá(n) modificaciones (por ejemplo, mejoras) en determinadas propiedades biológicas (por ejemplo, incremento en afinidad, reducción en inmunogenicidad) en relación con el anticuerpo original y/o habrá(n) conservado 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, afinidad de unión).

Se pueden realizar alteraciones (por ejemplo, sustituciones) en las HVR, por ejemplo, para mejorar la afinidad del anticuerpo. Dichas alteraciones se pueden realizar en "puntos calientes" de HVR, es decir, residuos codificados por codones que se someten a mutación a alta frecuencia durante el proceso de maduración somática (véase, por ejemplo, Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)), y/o SDR (a-CDR), sometándose a prueba la variante resultante VH o VL para determinar la afinidad de unión. La maduración de afinidad por 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 modos de realización de maduración de afinidad, se introduce diversidad en los genes variables elegidos para la maduración por cualquiera de una variedad de procedimientos (por ejemplo, PCR propensa a error, reordenamiento 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 residuos de HVR implicados en la unión a antígeno, por ejemplo, usando modelado o mutagénesis por barrido de alanina. A menudo se seleccionan en particular CDR-H3 y CDR-L3.

En determinados ejemplos, se pueden producir sustituciones, inserciones o deleciones dentro de 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 HVR. Dichas alteraciones pueden estar fuera de los "puntos calientes" de HVR o SDR. En determinados ejemplos 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 aminoacídicas.

Un procedimiento útil para la identificación de residuos o regiones de un anticuerpo que se pueden dirigir 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, un residuo o grupo de residuos diana (por ejemplo, residuos cargados, tales

como arg, asp, his, lys y glu) se identifican y se reemplazan por un aminoácido neutro o cargado negativamente (por ejemplo, alanina o polialanina) para determinar si la interacción del anticuerpo con 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 adicional, una estructura cristalina de un complejo antígeno-anticuerpo se usa para identificar los puntos de contacto entre el anticuerpo y el antígeno. Dichos residuos de contacto y residuos adyacentes se pueden dirigir o eliminar como candidatos para la sustitución. Se pueden cribar 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 de un residuo a polipéptidos que contienen cien o más residuos, así como inserciones intrasecuenciales de residuos aminoácidos individuales 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 ejemplos, un anticuerpo se altera para incrementar o disminuir el grado en que el anticuerpo se glucosila. La adición o delección de sitios de glucosilación en un anticuerpo se puede lograr convenientemente alterando la secuencia de aminoácidos de modo que se crean o se retiran uno o más sitios de glucosilación.

Cuando el anticuerpo comprende una región Fc, se puede alterar el carbohidrato unido a la misma. Los anticuerpos naturales producidos por células de mamífero típicamente comprenden un oligosacárido biantenarico ramificado que se une en general por 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 unida a un GlcNAc en el "tallo" de la estructura oligosacárida biantenarica. 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 ejemplo, se proporcionan variantes de anticuerpo que tienen una estructura carbohidratada que carece de fucosa unida (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 dentro de la cadena glucídica en Asn297, con relación a la suma de todas las glucoestructuras unidas a Asn297 (por ejemplo, estructuras complejas, híbridas y de alto contenido en manosa) como se mide por espectrometría de masas MALDI-TOF, como se describe en el documento WO 2008/077546, por ejemplo. 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 mejora en la función ADCC. 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 celulares que pueden producir anticuerpos desfucosilados incluyen células Lec13 CHO carentes de fucosilación de proteínas (Ripka *et al.* *Arch. Biochem. Biophys.* 249:533-545 (1986); solicitud de patente de EE. UU. n.º US 2003/0157108 A1, Presta, L.; y documento WO 2004/056312 A1, Adams *et al.*, en especial el ejemplo 11), y líneas celulares con genes inactivados, tales como células CHO con el gen FUT8, de la alfa-1,6-fucosiltransferasa, inactivado (véanse, por ejemplo, Yamane-Ohnuki *et al.* *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004); Kanda, Y. *et al.*, *Biotechnol. Bioeng.*, 94(4):680-688 (2006); y documento WO2003/085107).

Se proporcionan además variantes de anticuerpo con oligosacáridos bisecados, por ejemplo, en las que un oligosacárido biantenarico unido a la región Fc del anticuerpo se biseca por GlcNAc. Dichas variantes de anticuerpo pueden tener una reducción en la fucosilación y/o una mejora en la función ADCC. 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 unido a la región Fc. Dichas variantes de anticuerpo pueden tener una mejora en la función CDC. 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 ejemplos, 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 comprende una modificación aminoacídica (por ejemplo, una sustitución) en una o más posiciones aminoacídicas.

En determinados modos de realización, una variante de anticuerpo que posee algunas pero no todas las funciones efectoras, es un candidato deseable para aplicaciones en las que la semivida del anticuerpo *in vivo* es importante, aunque determinadas funciones efectoras (tales como complemento y ADCC) son innecesarias o perjudiciales. Se pueden realizar 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 realizar ensayos de unión al receptor de Fc (FcR) para garantizar que el anticuerpo carezca de unión a FcγR (de ahí que probablemente carezca de actividad ADCC), pero conserve su capacidad de unión a FcRn. Las células primarias para mediar en la ADCC, los linfocitos NK, expresan solo FcγRIII, mientras que los monocitos expresan FcγRI, FcγRII y FcγRIII. 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; (véanse, 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 ensayo no radioactivos (véanse, 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 citotóxicos (NK). De forma alternativa, o adicional, 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, H., *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 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 reducción en la función efectora incluyen los de sustitución de uno o más de los residuos de región Fc 238, 265, 269, 270, 297, 327 y 329 (patente de EE. UU. n.º 6.737.056). Dichos mutantes de Fc incluyen mutantes de Fc con sustituciones en dos o más de las posiciones aminoacídicas 265, 269, 270, 297 y 327, incluyendo el llamado mutante de Fc "DANA" con sustitución de los residuos 265 y 297 por alanina (patente de EE. UU. n.º 7.332.581).

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

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

En algunos ejemplos, 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).

Los anticuerpos con un incremento en las semividas y una mejora en la unión 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)), se describen en el documento US2005/0014934A1 (Hinton *et al.*). Estos anticuerpos comprenden una región Fc con una o más sustituciones en la misma que mejoran la unión de la región Fc a FcRn. Dichas variantes de Fc incluyen las de sustituciones en uno o más de los residuos de la región Fc: 238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 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.

d. Variantes de anticuerpos genomanipulados con cisteína

En determinados ejemplos, puede ser deseable crear anticuerpos genomanipulados con cisteína, por ejemplo, "tioMAb", en los que uno o más residuos de un anticuerpo anti-CD79b se sustituyen con residuos de cisteína. En

ejemplos particulares, los residuos sustituidos se producen en sitios accesibles del anticuerpo. Al sustituir 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 a 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 ejemplos, uno cualquiera o más de los siguientes residuos se pueden sustituir con cisteína: V205 (numeración de Kabat) de la región Fc de la cadena ligera; A118 (numeración EU) de la cadena pesada; y S400 (numeración EU) 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 anticuerpos

En determinados ejemplos, un anticuerpo proporcionado en el presente documento se puede modificar además para contener restos no proteínicos 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), 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 óxido de prolipropileno/óxido de etileno, polioles polioxiethylados (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 unidos al anticuerpo puede variar y, si se une más de un polímero, pueden ser moléculas iguales o diferentes. En general, el número y/o tipo de polímeros usados para la derivatización se puede determinar en base a consideraciones incluyendo, pero sin limitarse a, las propiedades o funciones particulares del anticuerpo que se van a mejorar, ya sea si el derivado de anticuerpo se usará en un tratamiento en condiciones definidas, etc.

En otro ejemplo, se proporcionan conjugados de un anticuerpo y un resto no proteínico que se pueden calentar selectivamente por exposición a radiación. En un modo de realización, el resto no proteínico 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, longitudes de onda que no dañan células normales, pero que calientan el resto no proteínico hasta una temperatura a la que las células próximas al anticuerpo-resto no proteínico se destruyen.

C. Procedimientos y composiciones recombinantes

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 ejemplo, se proporciona un ácido nucleico aislado que codifica un anticuerpo 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 ejemplo, se proporcionan uno o más vectores (por ejemplo, vectores de expresión) que comprenden dicho ácido nucleico. En otro ejemplo, 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 ejemplo, la célula huésped es eucariota, por ejemplo, una célula de ovario de hámster chino (CHO) o una célula linfática (por ejemplo, célula Y0, NS0, Sp20). En un ejemplo, se proporciona un procedimiento de preparación de un anticuerpo, 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, 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 aplicando procedimientos convencionales (por ejemplo, usando sondas oligonucleotídicas 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, se pueden producir anticuerpos en bacterias, en particular, cuando no se necesitan la 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 la expresión, se puede aislar el anticuerpo de la pasta de células bacterianas en una fracción soluble y se puede purificar adicionalmente.

Además de procariotas, los microbios eucariotas tales como hongos filamentosos o levaduras son huéspedes de clonación o expresión adecuados para vectores que codifican anticuerpos, incluyendo cepas de hongos y levaduras con vías de glucosilación que 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 derivan de organismos pluricelulares (invertebrados y vertebrados). Los ejemplos de células de invertebrado incluyen células vegetales y de insecto. Se han identificado numerosas cepas de baculovirus que se pueden usar conjuntamente 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.º 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 celulares de mamífero que se adaptan para cultivar en suspensión. Otros ejemplos de líneas de células huésped de mamífero útiles son 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).

D. Ensayos

Los anticuerpos proporcionados en el presente documento se pueden identificar, cribar o caracterizar por sus propiedades físicas/químicas y/o actividades biológicas por diversos ensayos conocidos en la técnica.

En un aspecto, un anticuerpo de la invención se somete a prueba para determinar su actividad de unión a antígeno, por ejemplo, por procedimientos conocidos tales como ELISA, BIACore®, FACS o inmunoelectrotransferencia.

En un ejemplo, se pueden usar ensayos de competencia para identificar un anticuerpo que compite con cualquiera de los anticuerpos descritos en el presente documento por unirse al antígeno diana. En determinados ejemplos, dicho anticuerpo competidor se une al mismo epítipo (por ejemplo, un epítipo lineal o uno conformacional) que se une por un anticuerpo descrito en el presente documento. Los procedimientos ejemplares para cartografiar un epítipo al que se une un anticuerpo se proporcionan en Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols", en *Methods in Molecular Biology* vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ).

En un ensayo de competencia ejemplar, el antígeno inmovilizado se incuba en una solución que comprende un primer anticuerpo marcado que se une al antígeno (por ejemplo, cualquiera de los anticuerpos descritos en el presente documento) y un segundo anticuerpo no marcado que se somete a prueba para determinar su capacidad para competir con el primer anticuerpo para unirse al antígeno. El segundo anticuerpo puede estar presente en un sobrenadante de hibridoma. Como control, se incuba el antígeno inmovilizado en una solución que comprende el primer anticuerpo marcado pero no el segundo anticuerpo no marcado. Después de la incubación en condiciones permisivas para la unión del primer anticuerpo al antígeno, se retira el exceso de anticuerpo no unido, y se mide la cantidad de marcador asociado con el antígeno inmovilizado. Si la cantidad de marcador asociado con el antígeno inmovilizado se reduce sustancialmente 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 por la unión al antígeno. Véase Harlow y Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* cap.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY).

E. Inmunoconjugados

En el presente documento también se proporcionan inmunoconjugados que comprenden un anticuerpo anti-CD79b conjugado en el presente documento con uno o más agentes citotóxicos, tales como agentes quimioterápicos o fármacos, 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 radiactivos (es decir, un radioconjugado) para su uso en los procedimientos descritos en el presente documento.

Los inmunoconjugados permiten el suministro dirigido de un resto de fármaco a un tumor y, en algunos modos de realización, la acumulación intracelular en el mismo, donde la administración sistémica de fármacos no conjugados puede dar como resultado niveles inaceptables de toxicidad para células normales (Polakis P. (2005) *Current Opinion in Pharmacology* 5:382-387).

Los conjugados anticuerpo-fármaco (ADC) son moléculas quimioterápicas dirigidas que combinan propiedades tanto de anticuerpos como de fármacos citotóxicos dirigiendo fármacos citotóxicos potentes a las células tumorales que expresan antígenos (Teicher, B.A. (2009) *Current Cancer Drug Targets* 9:982-1004), potenciando de este modo el índice terapéutico maximizando la eficacia y minimizando la toxicidad colateral (Carter, P.J. y Senter P.D. (2008) *The Cancer Jour.* 14(3):154-169; Chari, R.V. (2008) *Acc. Chem. Res.* 41:98-107.

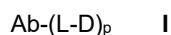
Los compuestos de ADC incluyen aquellos con actividad antineoplásica. En algunos ejemplos, los compuestos de ADC incluyen un anticuerpo conjugado, es decir, unido covalentemente al resto de fármaco. En algunos ejemplos, el anticuerpo se une covalentemente al resto de fármaco a través de un conector. Los conjugados anticuerpo-fármaco (ADC) de la invención suministran selectivamente una dosis eficaz de un fármaco al tejido tumoral con lo que se puede lograr mayor selectividad, es decir, una dosis eficaz menor, mientras se incrementa el índice terapéutico ("margen terapéutico").

El resto de fármaco (D) de los conjugados anticuerpo-fármaco (ADC) puede incluir cualquier compuesto, resto o grupo que tiene un efecto citotóxico o citostático. Los restos de fármaco pueden impartir sus efectos citotóxicos y citostáticos por mecanismos que incluyen pero no se limitan a unión a tubulina, unión o intercalación de ADN e inhibición de la ARN polimerasa, síntesis de proteínas y/o topoisomerasa. Los restos de fármaco ejemplares incluyen, pero no se limitan a, un maitansinoide, dolastatina, auristatina, caliqueamicina, antraciclina, duocarmicina, alcaloide de la vinca, taxano, tricoteceno, CC1065, camptotecina, elinafida y estereoisómeros, isómeros, análogos y derivados de los mismos que tienen actividad citotóxica. Los ejemplos no limitantes de dichos inmunoconjugados se analizan con más detalle a continuación.

1. Conjugados anticuerpo-fármaco ejemplares

Un ejemplo ejemplar de un compuesto de conjugado anticuerpo-fármaco (ADC) comprende un anticuerpo (Ab) que se dirige a una célula tumoral, un resto de fármaco (D) y un resto conector (L) que une Ab a D. En algunos ejemplos, el anticuerpo se une al resto conector (L) a través de uno o más residuos aminoácidos, tales como lisina y/o cisteína. En algunos ejemplos, de cualquiera de los procedimientos, el inmunoconjugado tiene la fórmula $Ab-(L-D)_p$, en la que: (a) Ab es el anticuerpo que se une a una proteína de superficie celular MM; (b) L es un conector; (c) D es un agente citotóxico; y (d) p varía de 1 a 8.

Un ADC ejemplar tiene la fórmula I:



donde p es de 1 a aproximadamente 20. En algunos modos de realización, el número de restos de fármaco que se puede conjugar con un anticuerpo se limita por el número de residuos de cisteína libres. En algunos ejemplos, se introducen residuos de cisteína libres en la secuencia de aminoácidos del anticuerpo por los procedimientos descritos en el presente documento. Los ADC ejemplares de fórmula I incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos que tienen 1, 2, 3 o 4 aminoácidos de cisteína genomanipulados (Lyon, R. *et al* (2012) *Methods in Enzym.* 502:123-138). En algunos modos de realización, uno o más residuos de cisteína libre ya están presentes en un anticuerpo, sin el uso de genomanipulación, caso en el que los residuos de cisteína libre existentes se pueden usar para conjugar el anticuerpo con un fármaco. En algunos ejemplos, un anticuerpo se expone a condiciones reductoras antes de la conjugación del anticuerpo para generar uno o más residuos de cisteína libres.

a) Conectores ejemplares

Un "conector" (L) es un resto bifuncional o multifuncional que se puede usar para unir uno o más restos de fármaco (D) a un anticuerpo (Ab) para formar un conjugado anticuerpo-fármaco (ADC) de fórmula I. En algunos ejemplos, los conjugados anticuerpo-fármaco (ADC) se pueden preparar usando un conector que tiene funcionalidades reactivas para unirse covalentemente al fármaco y al anticuerpo. Por ejemplo, en algunos ejemplos, una cisteína tiol de un anticuerpo (Ab) puede formar un enlace con un grupo funcional reactivo de un conector o un intermedio fármaco-conector para formar un ADC.

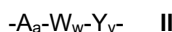
En un ejemplo, un conector tiene una funcionalidad que puede reaccionar con una cisteína libre presente en un anticuerpo para formar un enlace covalente. Dichas funcionalidades reactivas ejemplares no limitantes incluyen maleimida, haloacetamidas, α -haloacetilo, ésteres activados tales como ésteres de succinimida, ésteres de 4-nitrofenilo, ésteres de pentafluorofenilo, ésteres de tetrafluorofenilo, anhídridos, cloruros ácidos, cloruros de sulfonilo, isocianatos e isotiocianatos. Véanse, por ejemplo, el procedimiento de conjugación en la página 766 de Klussman, *et al* (2004), *Bioconjugate Chemistry* 15(4):765-773, y los ejemplos en el presente documento.

En algunos ejemplos, un conector tiene una funcionalidad que puede reaccionar con un grupo electrófilo presente en un anticuerpo. Dichos grupos electrófilos ejemplares incluyen, pero no se limitan a, grupos carbonilo de aldehído y cetona. En algunos modos de realización, un heteroátomo de la funcionalidad reactiva del conector puede reaccionar con un grupo electrófilo en un anticuerpo y formar un enlace covalente con una unidad de anticuerpo. Dichas funcionalidades reactivas ejemplares no limitantes incluyen, pero no se limitan a, hidracida, oxima, amino, hidracina, tiosemicarbazona, carboxilato de hidracina y arilhidracida.

El conector puede comprender uno o más componentes conectores. Los componentes conectores ejemplares incluyen 6-maleimidocaproilo ("MC"), maleimidopropanoilo ("MP"), valina-citrulina ("val-cit" o "vc"), alanina-fenilalanina ("ala-phe"), p-aminobenciloxycarbonilo (un "PAB"), 4-(2-piridiltio)pentanoato de N-succinimidilo ("SPP") y ciclohexano-1-carboxilato de 4-(N-maleimidometilo) ("MCC"). Diversos componentes conectores son conocidos en la técnica, de los que algunos se describen a continuación.

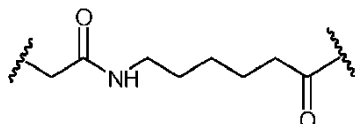
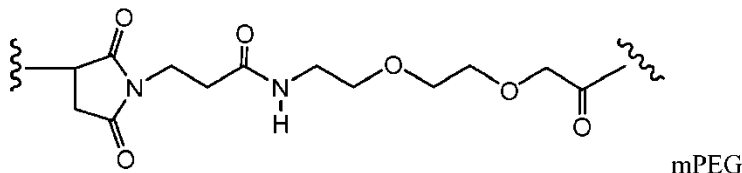
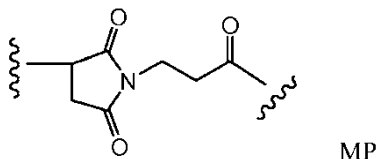
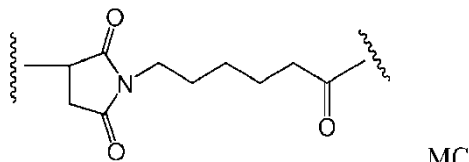
Un conector puede ser un "conector escindible", lo que facilita la liberación de un fármaco. Los conectores escindibles ejemplares no limitantes incluyen conectores con ácido lábil (por ejemplo, que comprenden hidrazona), conectores sensibles a proteasas (por ejemplo, sensibles a peptidasas), conectores fotolábiles o conectores que contienen disulfuro (Chari *et al.*, Cancer Research 52:127-131 (1992); documento US 5208020).

En determinados modos de realización, un conector tiene la siguiente fórmula II:



en la que A es una "unidad extensora", y a es un número entero de 0 a 1; W es una unidad aminoacídica, y w es un número entero de 0 a 12; Y es una "unidad espaciadora", e y es 0, 1 o 2; y Ab, D y p se definen como anteriormente para la fórmula I. Los modos de realización ejemplares de dichos conectores se describen en el documento de patente de EE. UU. n.º 7.498.298.

En algunos ejemplos, un componente conector comprende una "unidad extensora" que une un anticuerpo a otro componente de conector o a un resto de fármaco. Las unidades extensoras ejemplares no limitantes se muestran a continuación (en las que la línea ondulada indica sitios de unión covalente a un anticuerpo, fármaco o componentes conectores adicionales):

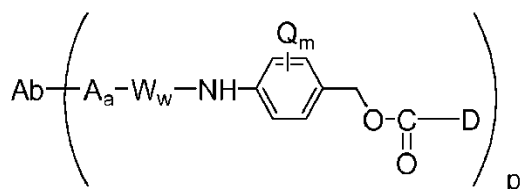


En algunos ejemplos, un componente conector comprende una "unidad aminoacídica". En algunos de dichos modos de realización, la unidad aminoacídica permite la escisión del conector por una proteasa, facilitando de este modo la liberación del fármaco desde el inmunoconjugado tras la exposición a proteasas intracelulares, tales como enzimas lisosomales (Doronina *et al.* (2003) *Nat. Biotechnol.* 21:778-784). Las unidades aminoacídicas ejemplares incluyen, pero no se limitan a, dipéptidos, tripéptidos, tetrapéptidos y pentapéptidos. Los dipéptidos ejemplares incluyen, pero no se limitan a, valina-citrulina (vc o val-cit), alanina-fenilalanina (af o ala-phe); fenilalanina-lisina (fk o fen-lis); fenilalanina-homolisina (fenil-homolis); y N-metil-valina-citrulina (Me-val-cit). Los tripéptidos ejemplares incluyen, pero

no se limitan a, glicina-valina-citrulina (gly-val-cit) y glicina-glicina-glicina (gly-gly-gly). Una unidad aminoacídica puede comprender residuos aminoacídicos que se producen de forma natural y/o aminoácidos menores y/o análogos de aminoácidos no naturales, tales como citrulina. Las unidades aminoacídicas se pueden diseñar y optimizar para la escisión enzimática por una enzima particular, por ejemplo, una proteasa asociada a tumor, cathepsina B, C y D, o una proteasa plasmina.

En algunos ejemplos, un componente conector comprende una unidad "espaciadora" que une el anticuerpo a un resto de fármaco, directamente o bien a través de una unidad extensora y/o una unidad aminoacídica. Una unidad espaciadora puede ser "autoinmolativa" o "no autoinmolativa". Una unidad espaciadora "no autoinmolativa" es una en la que parte o la totalidad de la unidad espaciadora permanece unida al resto de fármaco tras la escisión del ADC. Los ejemplos de unidades espaciadoras no autoinmolativas incluyen, pero no se limitan a, una unidad espaciadora de glicina y una unidad espaciadora de glicina-glicina. En algunos ejemplos, la escisión enzimática de un ADC que contiene una unidad espaciadora de glicina-glicina por una proteasa asociada a células tumorales da como resultado la liberación de un resto de glicina-glicina-fármaco del resto del ADC. En algunos de dichos ejemplos, el resto de glicina-glicina-fármaco se somete a una etapa de hidrólisis en la célula tumoral, escindiendo así la unidad espaciadora de glicina-glicina del resto de fármaco.

Una unidad espaciadora "autoinmolativa" permite la liberación del resto de fármaco. En determinados ejemplos, una unidad espaciadora de un conector comprende una unidad p-aminobencilo. En algunos de dichos ejemplos, un alcohol p-aminobencílico se une a una unidad aminoacídica por medio de un enlace amida, y se forma un carbamato, metilcarbamato o carbonato entre el alcohol bencílico y el fármaco (Hamann *et al.* (2005) *Expert Opin. Ther. Patents* (2005) 15:1087-1103). En algunos ejemplos, la unidad espaciadora es p-aminobenciloxicarbonilo (PAB). En algunos ejemplos, un ADC que comprende un conector autoinmolativo tiene la estructura:

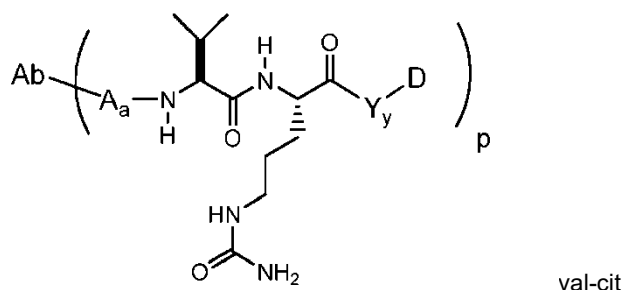


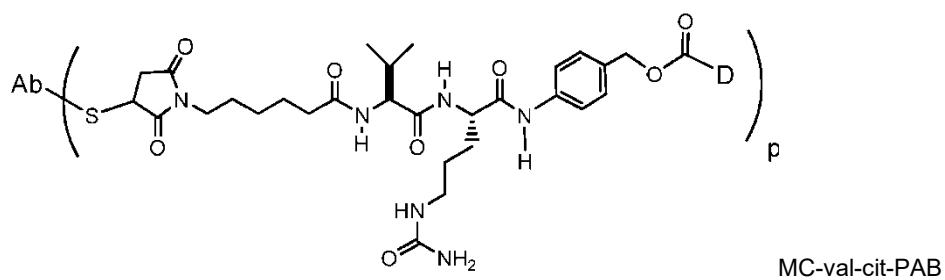
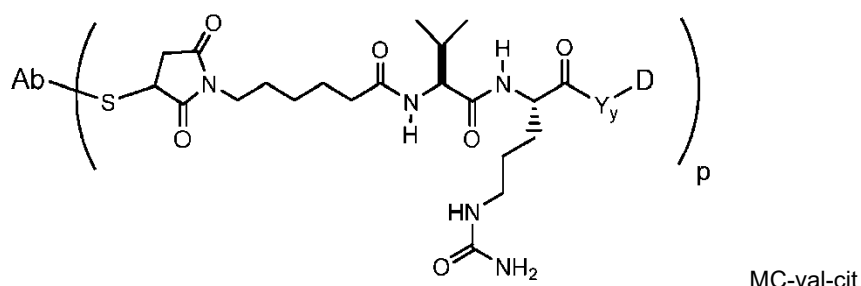
en la que Q es -alquilo C₁-C₈, -O-(alquilo C₁-C₈), -halógeno, -nitro, o -cino; m es un número entero que varía de 0 a 4; y p varía de 1 a aproximadamente 20. En algunos ejemplos, p varía de 1 a 10, 1 a 7, 1 a 5 o 1 a 4.

Otros ejemplos de espaciadores autoinmolativos incluyen, pero no se limitan a, compuestos aromáticos que son electrónicamente similares al grupo PAB, tales como derivados de 2-aminoimidazol-5-metanol (patente de EE. UU. n.º 7.375.078; Hay *et al.* (1999) *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 9:2237) y orto- o para-aminobencilacetales. En algunos ejemplos, se pueden usar espaciadores que experimentan ciclación tras la hidrólisis del enlace amida, tales como amidas de ácido 4-aminobutírico sustituidas y no sustituidas (Rodrigues *et al.* (1995) *Chemistry Biology* 2:223), sistemas de anillo biciclo [2.2.1] y biciclo [2.2.2] apropiadamente sustituidos (Storm *et al.* (1972) *J. Amer. Chem Soc.* 94:5815) y amidas de ácido 2-aminofenilpropiónico (Amsberry, *et al.* (1990) *J. Org. Chem.* 55:5867). La unión de un fármaco al carbono α de un residuo de glicina es otro ejemplo de un espaciador autoinmolativo que puede ser útil en ADC (Kingsbury *et al.* (1984) *J. Med. Chem.* 27:1447).

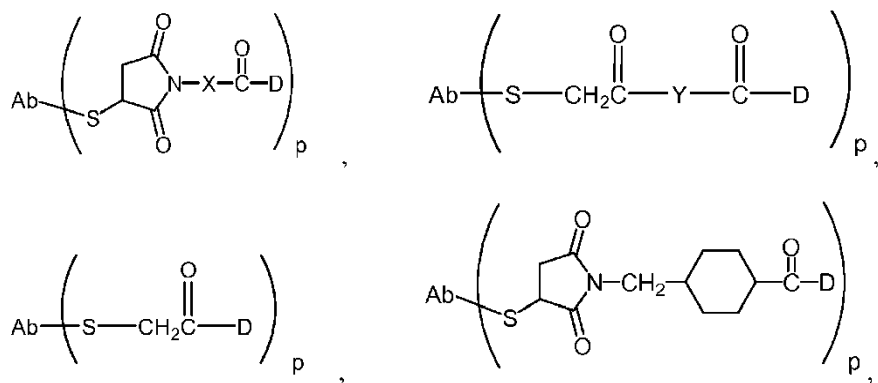
En algunos ejemplos, el conector L puede ser un conector de tipo dendrítico para la unión covalente de más de un resto de fármaco a un anticuerpo a través de un resto conector multifuncional de ramificación (Sun *et al.* (2002) *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 12:2213-2215; Sun *et al.* (2003) *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 11:1761-1768). Los conectores dendríticos pueden incrementar la proporción molar de fármaco con respecto a anticuerpo, es decir, la carga, que está relacionada con la potencia del ADC. Por tanto, cuando un anticuerpo porta solo un grupo cisteína tiol reactivo, se pueden unir una multitud de restos de fármaco a través de un conector dendrítico.

Los conectores ejemplares no limitantes se muestran a continuación en el contexto de un ADC de fórmula I:

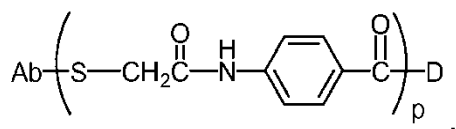




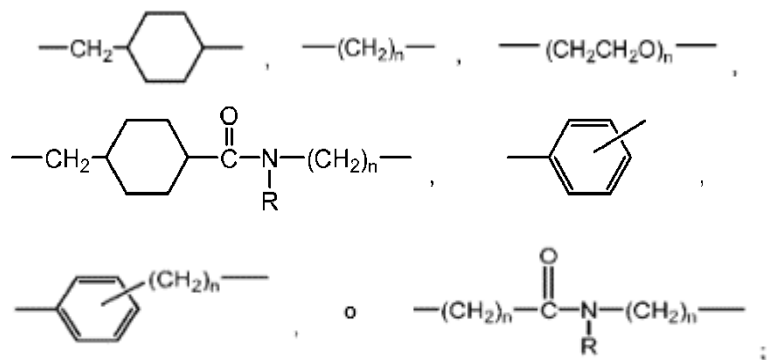
5 Otros ADC ejemplares no limitantes incluyen las estructuras:



10

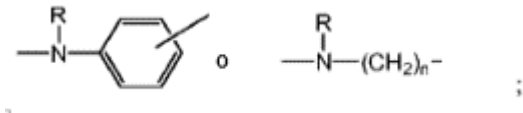


donde X es:



20

Yes:

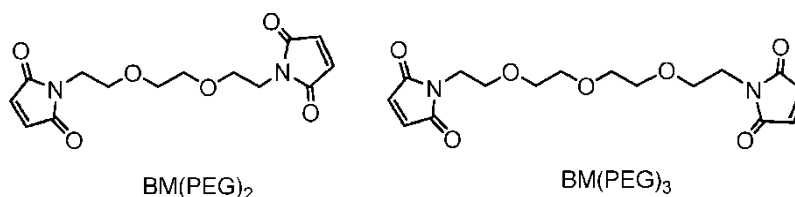


cada R es independientemente H o alquilo C₁-C₆; y n es 1 a 12.

Típicamente, se pueden preparar conectores de tipo peptídico formando un enlace peptídico entre dos o más aminoácidos y/o fragmentos peptídicos. Dichos enlaces peptídicos se pueden preparar, por ejemplo, de acuerdo con un procedimiento de síntesis en fase líquida (por ejemplo, E. Schröder y K. Lübke (1965) "The Peptides", volumen 1, pp 76-136, Academic Press).

En algunos ejemplos, un conector se sustituye con grupos que modulan la solubilidad y/o reactividad. Como ejemplo no limitante, un sustituyente cargado tal como sulfonato (-SO₃⁻) o amonio puede incrementar la solubilidad en agua del reactivo conector y facilitar la reacción de acoplamiento del reactivo conector con el anticuerpo y/o el resto de fármaco, o facilitar la reacción de acoplamiento de Ab-L (intermedio anticuerpo-conector) con D, o D-L (intermedio fármaco-conector) con Ab, dependiendo de la vía sintética empleada para preparar el ADC. En algunos ejemplos, una porción del conector está acoplada al anticuerpo y una porción del conector se acopla al fármaco, y a continuación Ab-(porción de conector)^a se acopla a fármaco-(porción de conector)^b para formar el ADC de fórmula I. En algunos de dichos ejemplos, el anticuerpo comprende más de un sustituyente (porción de conector)^a, de modo que más de un fármaco se acopla al anticuerpo en el ADC de fórmula I.

En algunos ejemplos, el ADC se puede preparar con los siguientes reactivos conectores: bis-maleimido-trioxietilenglicol (BMPEO), éster de N-(β-maleimidopropiloxi)-N-hidroxi-succinimida (BMPS), éster de N-(ε-maleimidocaproiloxi)succinimida (EMCS), éster de N-[γ-maleimidobutiriloxi]succinimida (GMBS), 1,6-hexano-bis-vinilsulfona (HBVS), 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxi-(6-amidocaproato) de succinimidilo (LC-SMCC), éster de m-maleimidobenzoil-N-hidroxisuccinimida (MBS), hidracida de ácido 4-(4-N-maleimidofenil)butírico (MPBH), 3-(bromoacetamido)propionato de succinimidilo (SBAP), yodoacetato de succinimidilo (SIA), (4-yodoacetil)aminobenzoato de succinimidilo (SLAB), 3-(2-piridilditio)propionato de N-succinimidilo (SPDP), 4-(2-piridiltio)pentanoato de N-succinimidilo (SPP), 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato de succinimidilo (SMCC), 4-(p-maleimidofenil)butirato de succinimidilo (SMPB), 6-[(β-maleimidopropionamido)hexanoato] de succinimidilo (SMPH), iminotiolano (IT), sulfo-EMCS, sulfo-GMBS, sulfo-KMUS, sulfo-MBS, sulfo-SIAB, sulfo-SMCC y sulfo-SMPB, y (4-vinilsulfona)benzoato de succinimidilo (SVSB), e incluyendo reactivos bis-maleimida: ditiobismaleimidoetano (DTME), 1,4-bismaleimidobutano (BMB), 1,4-bismaleimidil-2,3-dihidroibutano (BMDB), bismaleimidohexano (BMH), bismaleimidoetano (BMOE), BM(PEG)₂ (mostrado a continuación) y BM(PEG)₃ (mostrado a continuación); derivados bifuncionales de imidoésteres (tales como adipimidato de dimetilo HCl), ésteres activos (tales como suberato de disuccinimidilo), aldehídos (tales como glutaraldehído), compuestos de bis-ácido (tales como bis(p-ácidobenzoil)hexanodiamina), derivados de bis-diazonio (tales como bis-(p-diazoniobenzoil)-etilendiamina), diisocianatos (tales como tolueno-2,6-diisocianato) y compuestos de flúor bis-activos (tales como 1,5-difluoro-2,4-dinitrobenzeno). En algunos ejemplos, los reactivos de bis-maleimida permiten la unión del grupo tiol de una cisteína en el anticuerpo a un resto de fármaco que contiene tiol, conector o intermedio conector-fármaco. Otros grupos funcionales que son reactivos con los grupos tiol incluyen, pero no se limitan a, yodoacetamida, bromoacetamida, vinilpiridina, disulfuro, piridildisulfuro, isocianato e isotiocianato.



Determinados reactivos conectores útiles se pueden obtener de diversas fuentes comerciales, tales como Pierce Biotechnology, Inc. (Rockford, IL), Molecular Biosciences Inc. (Boulder, CO), o sintetizarse de acuerdo con los procedimientos descritos en la técnica; por ejemplo, en Toki *et al* (2002) *J. Org. Chem.* 67:1866-1872; Dubowchik, *et al.* (1997) *Tetrahedron Letters*, 38:5257-60; Walker, M.A. (1995) *J. Org. Chem.* 60:5352-5355; Frisch *et al* (1996) *Bioconjugate Chem.* 7:180-186; US 6214345; documentos WO 02/088172; US 2003130189; US2003096743; WO 03/026577; WO 03/043583; y WO 04/032828.

El ácido 1-isotiocianatobencil-3-metildietilentríaminopentaacético (MX-DTPA) marcado con carbono 14 es un agente quelante ejemplar para la conjugación del radionúclido al anticuerpo. Véase, por ejemplo, el documento WO94/11026.

b) Restos de fármaco ejemplares

(1) Maitansina y maitansinoides

En algunos ejemplos, un immunoconjugado comprende un anticuerpo conjugado con una o más moléculas maitansinoides. Los maitansinoides son derivados de la maitansina y son inhibidores mitotóticos que actúan inhibiendo la polimerización de tubulina. La maitansina se aisló por primera vez a partir del arbusto del África oriental *Maytenus serrata* (patente de EE. UU. n.º 3896111). Posteriormente, se descubrió que determinados microbios también producen

maitansinoides, tales como maitansinol y ésteres C-3 de maitansinol (patente de EE. UU. n.º 4.151.042). Los maitansinoides sintéticos se divulgan, por ejemplo, en las patentes de EE. UU. n.º 4.137.230; 4.248.870; 4.256.746; 4.260.608; 4.265.814; 4.294.757; 4.307.016; 4.308.268; 4.308.269; 4.309.428; 4.313.946; 4.315.929; 4.317.821; 4.322.348; 4.331.598; 4.361.650; 4.364.866; 4.424.219; 4.450.254; 4.362.663; y 4.371.533.

Los restos de fármaco maitansinoides son restos de fármaco atractivos en los conjugados anticuerpo-fármaco debido a que son: (i) relativamente accesibles de preparar por fermentación o modificación química o derivatización de productos de fermentación, (ii) susceptibles de derivatización con grupos funcionales adecuados para la conjugación a través de conectores no disulfuro con anticuerpos, (iii) estables en el plasma y (iv) eficaces frente a una variedad de líneas celulares tumorales.

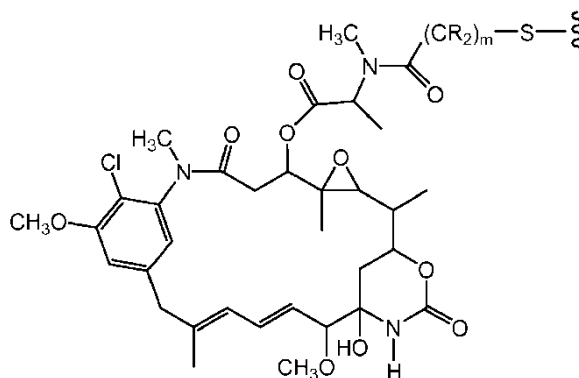
Determinados maitansinoides adecuados para su uso como restos de fármaco maitansinoides son conocidos en la técnica y se pueden aislar de fuentes naturales de acuerdo con procedimientos conocidos o producirse usando técnicas de genomanipulación (véase, por ejemplo, Yu *et al* (2002) PNAS 99:7968-7973). Los maitansinoides también se pueden preparar sintéticamente de acuerdo con procedimientos conocidos.

Los restos de fármaco maitansinoide ejemplares incluyen, pero no se limitan a, los que tienen un anillo aromático modificado, tales como: C-19-descloro (patente de EE. UU. n.º 4256746) (preparado, por ejemplo, por reducción con hidruro de litio y aluminio de ansamitocina P2); C-20-hidroxi (o C-20-desmetil) +/-C-19-descloro (patentes de EE. UU. n.º 4361650 y 4307016) (preparado, por ejemplo, por desmetilación usando *Streptomyces* o *Actinomyces* o descloración usando LAH); y C-20-desmetoxi, C-20-aciloxi (-OCOR), +/-descloro (patente de EE. UU. n.º 4.294.757) (preparado, por ejemplo, por acilación usando cloruros de acilo) y los que tienen modificaciones en otras posiciones del anillo aromático.

Los restos de fármaco maitansinoides ejemplares también incluyen los que tienen modificaciones tales como: C-9-SH (patente de EE. UU. n.º 4424219) (preparado, por ejemplo, por la reacción de maitansinol con H₂S o P₂S₅), C-14-alcoximetil(desmetoxi/CH₂OR) (documento US 4331598); C-14-hidroximetilo o aciloximetilo (CH₂OH o CH₂OAc) (patente de EE. UU. n.º 4450254) (preparado, por ejemplo, de Nocardia); C-15-hidroxi/aciloxi (documento US 4364866) (preparado, por ejemplo, por la conversión de maitansinol por *Streptomyces*); C-15-metoxi (patentes de EE. UU. n.º 4313946 y 4315929) (por ejemplo, aislado de *Trewia nudiflora*); C-18-N-desmetilo (patentes de EE. UU. n.º 4362663 y 4322348) (preparado, por ejemplo, por la desmetilación de maitansinol por *Streptomyces*); y 4,5-desoxi (documento US 4371533) (preparado, por ejemplo, por la reducción con tricloruro de titanio/LAH de maitansinol).

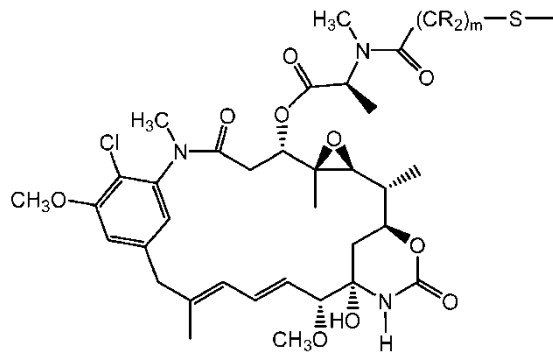
Muchas posiciones sobre compuestos maitansinoides son útiles como posición de enlace. Por ejemplo, se puede formar un enlace éster por reacción con un grupo hidroxilo usando técnicas de acoplamiento convencionales. En algunos ejemplos, la reacción se puede producir en la posición C-3 que tiene un grupo hidroxilo, la posición C-14 modificada con hidroximetilo, la posición C-15 modificada con un grupo hidroxilo y la posición C-20 que tiene un grupo hidroxilo. En algunos modos de realización, el enlace se forma en la posición C-3 del maitansinol o un análogo de maitansinol.

Los restos de fármaco maitansinoides incluyen los que tienen la estructura:

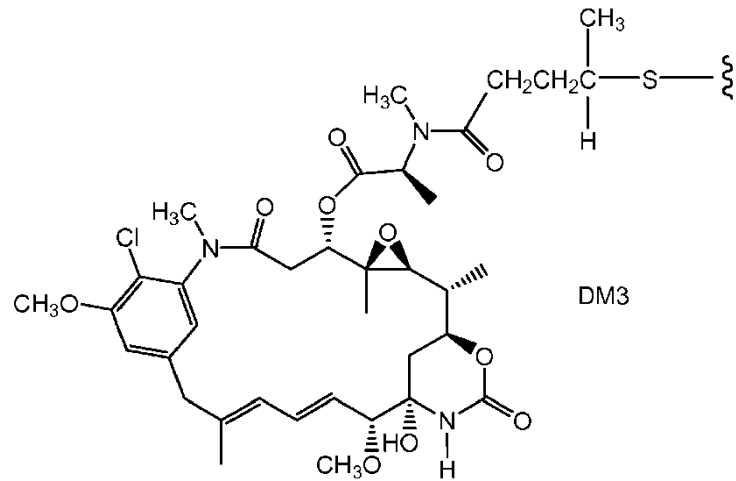
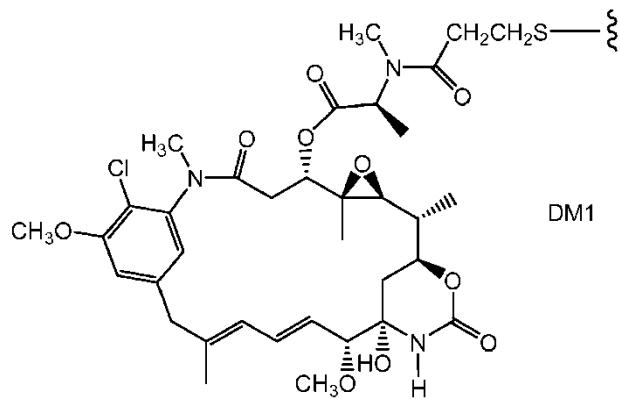


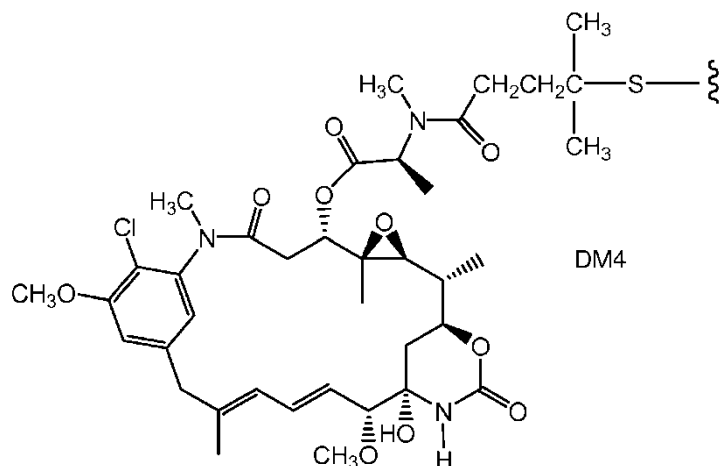
donde la línea ondulada indica la unión covalente del átomo de azufre del resto de fármaco maitansinoide a un conector de un ADC. Cada R puede ser independientemente H o un alquilo C₁-C₆. La cadena de alquileo que une el grupo amida al átomo de azufre puede ser metanilo, etanilo o propilo, es decir, m es 1, 2 o 3 (documentos US 633410; US 5208020; Chari *et al* (1992) Cancer Res. 52:127-131; Liu *et al* (1996) Proc. Natl. Acad. Sci USA 93:8618-8623).

Todos los estereoisómeros del resto del fármaco maitansinoide se contemplan para el ADC de la invención, es decir, cualquier combinación de configuraciones R y S en los carbonos quirales (documentos US 7276497; US 6913748; US 6441163; US 633410 (RE39151); US 5208020; Widdison *et al.* (2006) J. Med. Chem. 49: 4392-4408). En algunos ejemplos, el resto del fármaco maitansinoide tiene la siguiente estereoquímica:



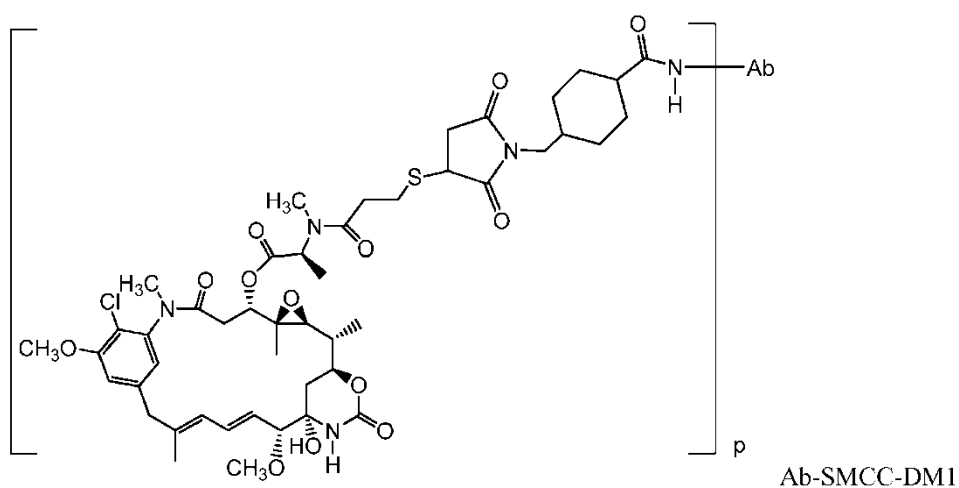
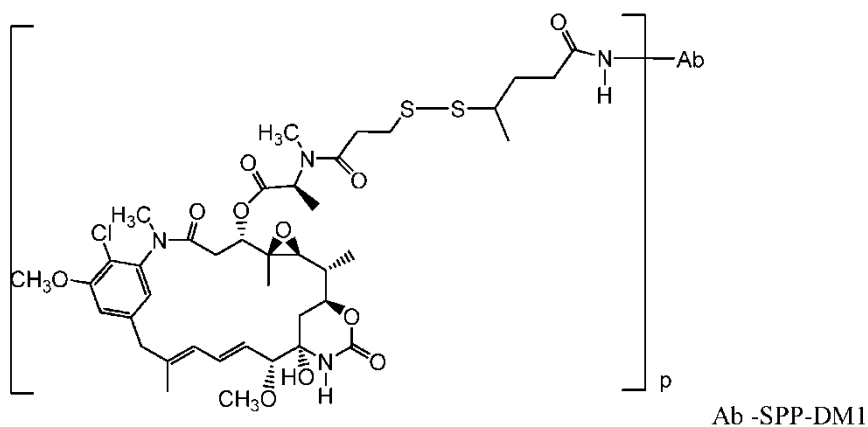
5 Los ejemplos ejemplares de restos de fármaco maitansinoides incluyen, pero no se limitan a, DM1; DM3; y DM4, que tienen las estructuras:



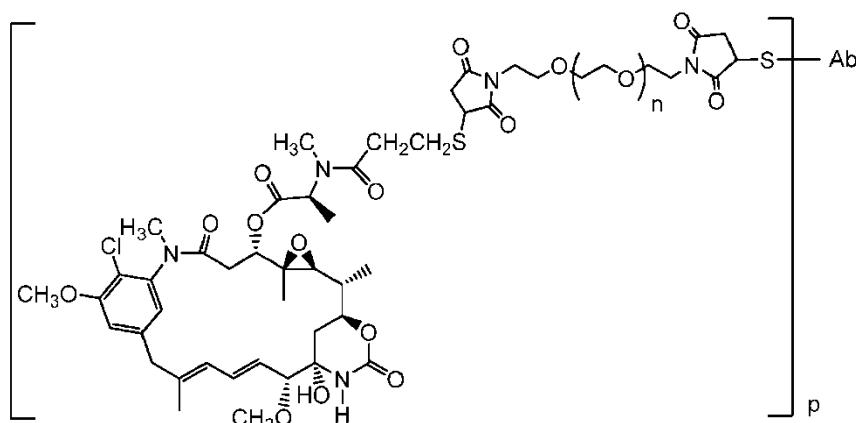


en las que la línea ondulada indica la unión covalente del átomo de azufre del fármaco a un conector (L) de un conjugado anticuerpo-fármaco.

Otros conjugados anticuerpo-fármaco maitansinoide ejemplares tienen las siguientes estructuras y abreviaturas (en las que Ab es anticuerpo y p es 1 a aproximadamente 20. En algunos modos de realización, p es de 1 a 10, p es de 1 a 7, p es de 1 a 5 o p es de 1 a 4):



Los conjugados anticuerpo-fármaco ejemplares donde DM1 se une a través de un conector BMPEO a un grupo tiol del anticuerpo tienen la estructura y la abreviatura:



donde Ab es anticuerpo; n es 0, 1 o 2; y p es de 1 a aproximadamente 20. En algunos modos de realización, p es de 1 a 10, p es de 1 a 7, p es de 1 a 5 o p es de 1 a 4.

Los immunoconjugados que contienen maitansinoides, procedimientos de fabricación de los mismos y su uso terapéutico se divulgan, por ejemplo, en las patentes de EE. UU. n.º 5.208.020 y 5.416.064; US 2005/0276812 A1; y patente europea EP 0 425 235 B1. Véanse también Liu *et al.* *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:8618-8623 (1996); y Chari *et al.* *Cancer Research* 52:127-131 (1992).

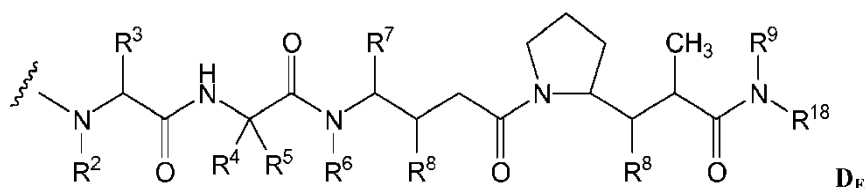
En algunos ejemplos, los conjugados anticuerpo-maitansinoide se pueden preparar uniendo químicamente un anticuerpo a una molécula maitansinoide sin disminuir significativamente la actividad biológica del anticuerpo o bien la molécula maitansinoide. Véase, por ejemplo, la patente de EE. UU. n.º 5.208.020 (de la que su divulgación se incorpora en el presente documento expresamente por referencia). En algunos ejemplos, el ADC con un promedio de 3-4 moléculas maitansinoides conjugadas por molécula de anticuerpo ha demostrado eficacia para potenciar la citotoxicidad de células diana sin afectar negativamente a la función o solubilidad del anticuerpo. En algunos casos, se espera que incluso una molécula de toxina/anticuerpo potencie la citotoxicidad por el uso de anticuerpos no marcados.

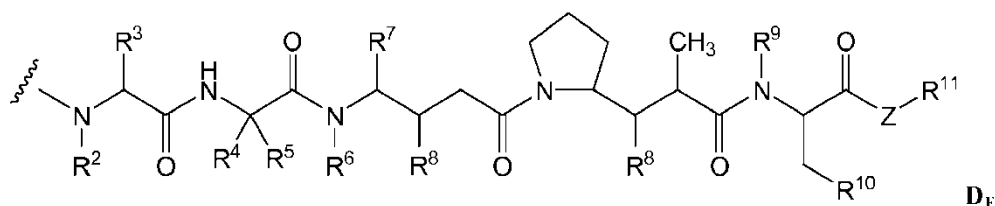
Los grupos de unión ejemplares para preparar conjugados anticuerpo-maitansinoide incluyen, por ejemplo, los descritos en el presente documento y los divulgados en la patente de EE. UU. n.º 5208020; patente EP 0 425 235 B1; Chari *et al.* *Cancer Research* 52:127-131 (1992); documentos US 2005/0276812 A1; y US 2005/016993 A1.

(2) Auristatinas y dolastatinas

Los restos de fármaco incluyen dolastatinas, auristatinas y análogos y derivados de las mismas (documentos US 5635483; US 5780588; US 5767237; US 6124431). Las auristatinas son derivados del compuesto de molusco marino dolastatina-10. Aunque sin pretender limitarse por ninguna teoría particular, se ha demostrado que las dolastatinas y auristatinas interfieren con la dinámica de microtúbulos, hidrólisis de GTP y división nuclear y celular (Woyke *et al.* (2001) *Antimicrob. Agents and Chemother.* 45 (12): 3580-3584) y tienen actividad antineoplásica (documento US 5663149) y antifúngica (Pettit *et al.* (1998) *Antimicrob. Agents Chemother.* 42:2961-2965). El resto de fármaco dolastatina/auristatina se puede unir al anticuerpo a través del extremo N (amino) o el extremo C (carboxilo) del resto de fármaco peptídico (documento WO 02/088172; Doronina *et al.* (2003) *Nature Biotechnology* 21 (7):778 -784; Francisco *et al.* (2003) *Blood* 102 (4):1458-1465).

Los modos de realización de auristatina ejemplares incluyen los restos de fármaco monometilauristatina unidos al extremo N D_E y D_F, divulgados en los documentos US 7498298 y US 7659241:





en los que la línea ondulada de D_E y D_F indica el sitio de unión covalente a un anticuerpo o componente anticuerpo-conector, e independientemente en cada localización:

R² se selecciona de H y alquilo C₁-C₈;

R³ se selecciona de H, alquilo C₁-C₈, carbociclo C₃-C₈, arilo, alquilo C₁-C₈-arilo, alquilo C₁-C₈-(carbociclo C₃-C₈), heterociclo C₃-C₈ y alquilo C₁-C₈-(heterociclo C₃-C₈);

R⁴ se selecciona de H, alquilo C₁-C₈, carbociclo C₃-C₈, arilo, alquil C₁-C₈-arilo, alquil C₁-C₈-(carbociclo C₃-C₈), heterociclo C₃-C₈ y alquilo C₁-C₈-(heterociclo C₃-C₈);

R⁵ se selecciona de H y metilo;

o R⁴ y R⁵ conjuntamente forman un anillo carbocíclico y tienen la fórmula -(CR^aR^b)_n en el que R^a y R^b se seleccionan independientemente de H, alquilo C₁-C₈ y carbociclo C₃-C₈ y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6;

R⁶ se selecciona de H y alquilo C₁-C₈;

R⁷ se selecciona de H, alquilo C₁-C₈, carbociclo C₃-C₈, arilo, alquil C₁-C₈-arilo, alquil C₁-C₈-(carbociclo C₃-C₈), heterociclo C₃-C₈ y alquilo C₁-C₈-(heterociclo C₃-C₈);

cada R⁸ se selecciona independientemente de H, OH, alquilo C₁-C₈, carbociclo C₃-C₈ y O-(alquilo C₁-C₈);

R⁹ se selecciona de H y alquilo C₁-C₈;

R¹⁰ se selecciona de arilo o heterociclo C₃-C₈;

Z es O, S, NH, o NR¹², en el que R¹² es alquilo C₁-C₈;

R¹¹ se selecciona de H, alquilo C₁-C₂₀, arilo, heterociclo C₃-C₈, -(R¹³O)_m-R¹⁴, o -(R¹³O)_m-CH(R¹⁵)₂;

m es un número entero que varía de 1 a 1000;

R¹³ es alquilo C₂-C₈;

R¹⁴ es H o alquilo C₁-C₈;

cada aparición de R¹⁵ es independientemente H, COOH, -(CH₂)_n-N(R¹⁶)₂, -(CH₂)_n-SO₃H, o -(CH₂)_n-SO₃-alquilo C₁-C₈;

cada aparición de R¹⁶ es independientemente H, alquilo C₁-C₈, o -(CH₂)_n-COOH;

R¹⁸ se selecciona de -C(R⁸)₂-C(R⁸)₂-arilo, -C(R⁸)₂-C(R⁸)₂-(heterociclo C₃-C₈) y -C(R⁸)₂-C(R⁸)₂-(carbociclo C₃-C₈); y

n es un número entero que varía de 0 a 6.

En un ejemplo, R³, R⁴ y R⁷ son independientemente isopropilo o sec-butilo y R⁵ es -H o metilo. En un ejemplo, R³ y R⁴ son cada uno isopropilo, R⁵ es -H, y R⁷ es sec-butilo.

Aún en otro ejemplo, R² y R⁶ son cada uno metilo, y R⁹ es -H.

Todavía en otro ejemplo, cada aparición de R⁸ es -OCH₃.

En un ejemplo, R³ y R⁴ son cada uno isopropilo, R² y R⁶ son cada uno metilo, R⁵ es -H, R⁷ es sec-butilo, cada aparición de R⁸ es -OCH₃, y R⁹ es -H.

En un ejemplo, Z es -O- o -NH-.

En un ejemplo, R¹⁰ es arilo.

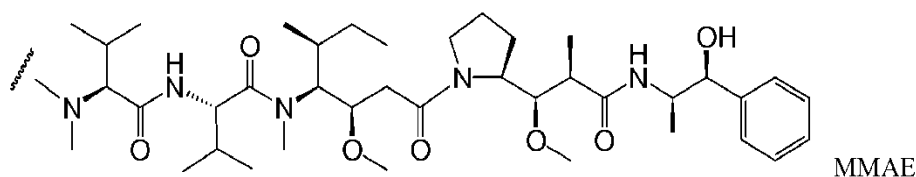
En un ejemplo, R^{10} es -fenilo.

En un ejemplo, cuando Z es -O-, R^{11} es -H, metilo o t-butilo.

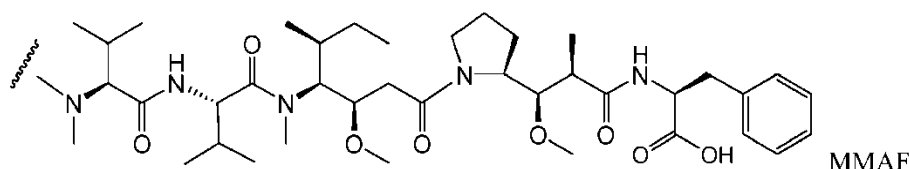
En un ejemplo, cuando Z es -NH, R^{11} es $-\text{CH}(R^{15})_2$, en el que R^{15} es $-(\text{CH}_2)_n\text{-N}(R^{16})_2$ y R^{16} es -alquilo $\text{C}_1\text{-C}_8$ o $-(\text{CH}_2)_n\text{-COOH}$.

En otro ejemplo, cuando Z es -NH, R^{11} es $-\text{CH}(R^{15})_2$, en el que R^{15} es $-(\text{CH}_2)_n\text{-SO}_3\text{H}$.

Una auristatina ejemplar de fórmula D_E es MMAE, en la que la línea ondulada indica la unión covalente a un conector (L) de un conjugado anticuerpo-fármaco:

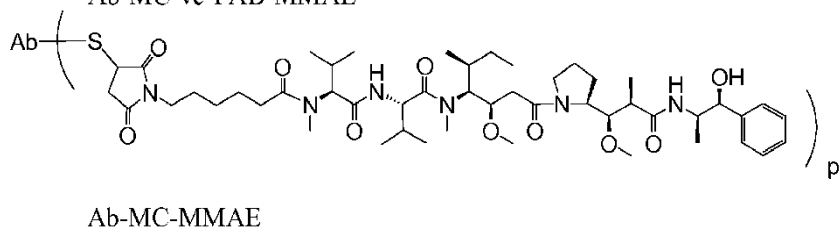
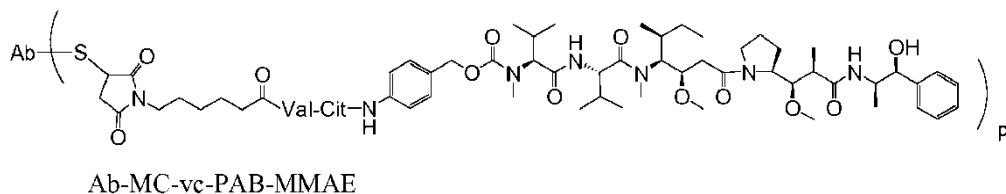
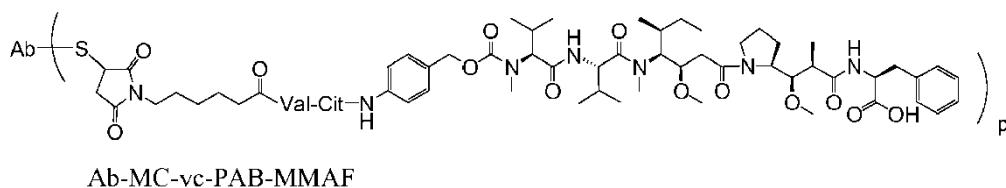


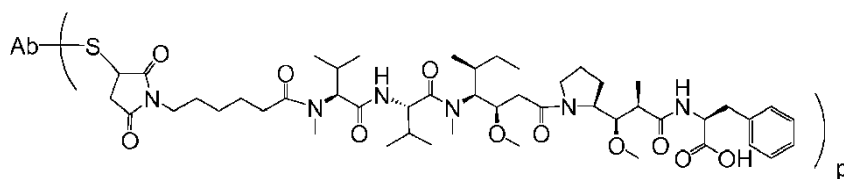
Una auristatina ejemplar de fórmula D_F es MMAF, en la que la línea ondulada indica la unión covalente a un conector (L) de un conjugado anticuerpo-fármaco:



Otros ejemplos incluyen compuestos de monometilvalina que tienen modificaciones carboxi fenilalanina en el extremo C del resto de fármaco de auristatina pentapeptídica (documento WO 2007/008848) y compuestos de monometilvalina que tienen modificaciones de cadena lateral de fenilalanina en el extremo C del resto de fármaco de auristatina pentapeptídica (documento WO 2007/008603).

Los ejemplos no limitantes de ADC de fórmula I que comprenden MMAE o MMAF y diversos componentes conectores tienen las siguientes estructuras y abreviaturas (en las que "Ab" es un anticuerpo; p es de 1 a aproximadamente 8, "Val-Cit" es un dipéptido valina-citrulina y "S" es un átomo de azufre:





Ab-MC-MMAF

Los ejemplos no limitantes de ADC de fórmula I que comprenden MMAF y diversos componentes conectores incluyen además Ab-MC-PAB-MMAF y Ab-PAB-MMAF. Se ha demostrado que los inmunoconjugados que comprenden MMAF unido a un anticuerpo por un conector que no es escindible proteolíticamente poseen actividad comparable a los inmunoconjugados que comprenden MMAF unido a un anticuerpo por un conector proteolíticamente escindible (Doronina *et al.* (2006) *Bioconjugate Chem.* 17:114-124). En algunos de dichos ejemplos, se cree que la liberación de fármaco se efectúa por la degradación de anticuerpo en la célula.

Típicamente, se pueden preparar restos de fármaco a base de péptido formando un enlace peptídico entre dos o más aminoácidos y/o fragmentos peptídicos. Dichos enlaces peptídicos se pueden preparar, por ejemplo, de acuerdo con un procedimiento de síntesis en fase líquida (véase, por ejemplo, E. Schröder y K. Lübke "The Peptides", volumen 1, pp 76-136, 1965, Academic Press). Los restos de fármaco de auristatina/dolastatina se pueden preparar, en algunos modos de realización, de acuerdo con los procedimientos de: documentos US 7498298; US 5635483; US 5780588; Pettit *et al* (1989) *J. Am. Chem. Soc.* 111:5463-5465; Pettit *et al* (1998) *Anti-Cancer Drug Design* 13:243-277; Pettit, G.R., *et al. Synthesis*, 1996, 719-725; Pettit *et al* (1996) *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* 5:859-863; y Doronina (2003) *Nat. Biotechnol.* 21(7):778-784.

En algunos modos de realización, restos de fármaco de auristatina/dolastatina de fórmulas D_E tales como MMAE y D_F, tales como MMAF, e intermedios fármaco-conector y derivados de los mismos, tales como MC-MMAF, MC-MMAE, MC-vc-PAB- MMAF y MC-vc-PAB-MMAE, se pueden preparar usando los procedimientos descritos en el documento US 7498298; Doronina *et al.* (2006) *Bioconjugate Chem.* 17:114-124; y Doronina *et al.* (2003) *Nat. Biotech.* 21:778-784 y a continuación conjugarse con un anticuerpo de interés.

(3) Caliqueamicina

En algunos ejemplos, el inmunoconjugado comprende un anticuerpo conjugado con una o más moléculas de caliqueamicina. La familia de antibióticos de caliqueamicina, y análogos de las mismas, pueden producir roturas de ADN bicatenario a concentraciones subpicomolares (Hinman *et al.*, (1993) *Cancer Research* 53:3336-3342; Lode *et al.*, (1998) *Cancer Research* 58:2925-2928). La caliqueamicina tiene sitios de acción intracelulares pero, en determinados casos, no atraviesa fácilmente la membrana plasmática. Por lo tanto, la captación celular de estos agentes a través de la internalización mediada por anticuerpos puede potenciar en gran medida, en algunos modos de realización, sus efectos citotóxicos. Los procedimientos ejemplares no limitantes de preparación de conjugados anticuerpo-fármaco con un resto de fármaco de caliqueamicina se describen, por ejemplo, en los documentos US 5712374; US 5714586; US 5739116; y US 5767285.

(4) Otros restos de fármaco

Los restos de fármaco también incluyen geldanamicina (Mandler *et al* (2000) *J. Nat. Cancer Inst.* 92(19):1573-1581; Mandler *et al* (2000) *Bioorganic & Med. Chem. Letters* 10:1025-1028; Mandler *et al* (2002) *Bioconjugate Chem.* 13:786-791); y toxinas enzimáticamente activas y fragmentos de las mismas, incluyendo, pero sin limitarse a, cadena A de difteria, fragmentos activos que no se unen de la toxina diftérica, cadena A de exotoxina (de *Pseudomonas aeruginosa*), cadena Ade ricina, cadena A de abrina, cadena A de modeccina, alfa-sarcina, proteínas de *Aleurites fordii*, proteínas de diantira, proteínas de *Phytolaca americana* (PAPI, PAPII y PAP-S), inhibidor de *Momordica charantia*, curcina, crotona, inhibidor de *Saponaria officinalis*, gelonina, mitogelina, restrictocina, fenomicina, enomicina y tricotecenos. Véase, por ejemplo, el documento WO 93/21232.

Los restos de fármaco también incluyen compuestos con actividad nucleolítica (por ejemplo, una ribonucleasa o una ADN endonucleasa).

En determinados ejemplos, un inmunoconjugado puede comprender un átomo altamente radiactivo. Una variedad de isótopos radiactivos están disponibles para la producción de anticuerpos radioconjugados. Los ejemplos incluyen At^{211} , I^{131} , I^{125} , Y^{90} , Re^{186} , Re^{188} , Sm^{153} , Bi^{212} , P^{32} , Pb^{212} e isótopos radioactivos de Lu. En algunos modos de realización, cuando se usa un inmunoconjugado para la detección, puede comprender un átomo radiactivo para estudios gammagráficos, por ejemplo Tc^{99} o I^{123} , o un marcador de espín para tomografía por resonancia magnética nuclear (RMN) (también conocida como resonancia magnética, RM), tal como circonio-89, yodo-123, yodo-131, indio-111, flúor-19, carbono-13, nitrógeno-15, oxígeno-17, gadolinio, manganeso o hierro. El circonio-89 se puede complejar con diversos agentes quelantes de metales y conjugarse con anticuerpos, por ejemplo, para obtención de imágenes de PET (documento WO 2011/056983).

Los radiomarcadores u otros marcadores se pueden incorporar en el inmunoconjugado de formas conocidas. Por ejemplo, un péptido se puede biosintetizar o sintetizar químicamente usando precursores de aminoácidos adecuados que comprenden, por ejemplo, uno o más átomos de flúor-19 en lugar de uno o más hidrógenos. En algunos ejemplos, los marcadores tales como Tc⁹⁹, I¹²³, Re¹⁸⁶, Re¹⁸⁸ y In¹¹¹ se pueden unir por medio de un residuo de cisteína en el anticuerpo. En algunos ejemplos, el itrio-90 se puede unir por medio de un residuo de lisina del anticuerpo. En algunos modos de realización, el procedimiento IODOGEN (Fraker *et al* (1978) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 80: 49-57 se puede usar para incorporar yodo-123. "Monoclonal Antibodies in Immunoscintigraphy" (Chatal, CRC Press 1989) describe determinados otros procedimientos.

En determinados ejemplos, un inmunoconjugado puede comprender un anticuerpo conjugado con una enzima activadora de profármaco. En algunos de dichos ejemplos, una enzima activadora de profármaco convierte un profármaco (por ejemplo, un agente quimioterápico peptídico, véase el documento WO 81/01145) en un fármaco activo, tal como un fármaco antineoplásico. Dichos inmunoconjugados son útiles, en algunos modos de realización, en el tratamiento con profármacos mediado por enzimas dependiente de anticuerpos ("ADEPT"). Las enzimas que se pueden conjugar con un anticuerpo incluyen, pero no se limitan a, fosfatasa alcalina, que son útiles para convertir profármacos que contienen fosfato en fármacos libres; arilsulfatasas, que son útiles para convertir profármacos que contienen sulfato en fármacos libres; citosina desaminasa, que es útil para convertir 5-fluorocitosina atóxica en el fármaco antineoplásico, 5-fluorouracilo; proteasas, tales como proteasa de *Serratia*, termolisina, subtilisina, carboxipeptidasas y catepsinas (tales como catepsinas B y L), que son útiles para convertir profármacos que contienen péptidos en fármacos libres; D-alanilcarboxipeptidasas, que son útiles para convertir profármacos que contienen sustituyentes D-aminoácidos; enzimas que escinden carbohidratos tales como β -galactosidasa y neuraminidasa, que son útiles para convertir profármacos glucosilados en fármacos libres; β -lactamasa, que es útil para convertir fármacos derivatizados con β -lactamas en fármacos libres y penicilina amidasa, tales como penicilina V amidasa o penicilina G amidasa, que son útiles para convertir fármacos derivatizados en sus nitrógenos amínicos con grupos fenoxiacetilo o fenilacetilo, respectivamente, en fármacos libres. En algunos ejemplos, las enzimas se pueden unir covalentemente a anticuerpos por técnicas de ADN recombinante bien conocidas en la técnica. Véase, por ejemplo, Neuberger *et al.*, *Nature* 312:604-608 (1984).

c) Carga de fármaco

La carga de fármaco se representa por p, el número promedio de restos de fármaco por anticuerpo en una molécula de fórmula I. La carga de fármaco puede variar de 1 a 20 restos de fármaco (D) por anticuerpo. Los ADC de fórmula I incluyen colecciones de anticuerpos conjugados con una gama de restos de fármaco, de 1 a 20. El número promedio de restos de fármaco por anticuerpo en preparaciones de ADC a partir de reacciones de conjugación se puede caracterizar por medios convencionales tales como espectroscopia de masas, ensayo ELISA y HPLC. La distribución cuantitativa de ADC en términos de p también se puede determinar. En algunos casos, la separación, purificación y caracterización de un ADC homogéneo donde p es un determinado valor de ADC con otras cargas de fármaco se pueden lograr por medios tales como HPLC de fase inversa o electroforesis.

Para algunos conjugados anticuerpo-fármaco, p se puede limitar por el número de sitios de unión en el anticuerpo. Por ejemplo, cuando la unión es una cisteína tiol, un anticuerpo puede tener solo uno o varios grupos cisteína tiol, o puede tener solo uno o varios grupos tiol suficientemente reactivos a través de los que se puede unir un conector. En determinados modos de realización, una mayor carga de fármaco, por ejemplo, p > 5, puede provocar agregación, insolubilidad, toxicidad o pérdida de permeabilidad celular de determinados conjugados anticuerpo-fármaco. En determinados modos de realización, la carga de fármaco promedio para un ADC varía de 1 a aproximadamente 8; de aproximadamente 2 a aproximadamente 6; o de aproximadamente 3 a aproximadamente 5. De hecho, se ha demostrado que para determinados ADC, la proporción óptima de restos de fármaco por anticuerpo puede ser menor que 8, y puede ser de aproximadamente 2 a aproximadamente 5 (documento US 7498298).

En determinados ejemplos, se conjugan menos del máximo teórico de restos de fármaco con un anticuerpo durante una reacción de conjugación. Un anticuerpo puede contener, por ejemplo, residuos de lisina que no reaccionan con el intermedio fármaco-conector o reactivo conector, como se analiza a continuación. En general, los anticuerpos no contienen muchos grupos cisteína tiol libres y reactivos que se pueden unir a un resto de fármaco; de hecho, la mayoría de los residuos de cisteína tiol en anticuerpos existen como puentes disulfuro. En determinados modos de realización, un anticuerpo se puede reducir con un agente reductor tal como ditiotreitól (DTT) o tricarboniletilfosfina (TCEP), en condiciones de reducción parcial o total, para generar grupos cisteína tiol reactivos. En determinados modos de realización, un anticuerpo se somete a condiciones desnaturalizantes para revelar grupos nucleófilos reactivos tales como lisina o cisteína.

La carga (proporción fármaco/anticuerpo) de un ADC se puede controlar de diferentes formas y, por ejemplo: (i) limitando el exceso molar del intermedio fármaco-conector o reactivo conector con respecto al anticuerpo, (ii) limitando el tiempo o temperatura de la reacción de conjugación, y (iii) por condiciones reductoras parciales o limitantes para la modificación de cisteína tiol.

Se debe entender que cuando más de un grupo nucleófilo reacciona con un intermedio fármaco-conector o reactivo

conector, a continuación el producto resultante es una mezcla de compuestos de ADC con una distribución de uno o más restos de fármaco unidos a un anticuerpo. El número promedio de fármacos por anticuerpo se puede calcular a partir de la mezcla por un ensayo de anticuerpos ELISA doble, que es específico para el anticuerpo y específico para el fármaco. Las moléculas de ADC individuales se pueden identificar en la mezcla por espectroscopía de masas y se pueden separar por HPLC, por ejemplo, cromatografía de interacción hidrófoba (véase, por ejemplo, McDonagh *et al* (2006) Prot. Engr. Design & Selection 19(7):299-307; Hamblett *et al* (2004) Clin. Cancer Res. 10:7063-7070; Hamblett, K.J., *et al*. "Effect of drug loading on the pharmacology, pharmacokinetics, and toxicity of an anti-CD30 antibody-drug conjugate," resumen n.º 624, American Association for Cancer Research, 2004 Annual Meeting, marzo 27-31, 2004, Proceedings of the AACR, volumen 45, marzo 2004; Alley, S.C., *et al*. "Controlling the location of drug attachment in antibody-drug conjugates," resumen n.º 627, American Association for Cancer Research, 2004 Annual Meeting, marzo 27-31, 2004, Proceedings of the AACR, volumen 45, marzo 2004). En determinados modos de realización, un ADC homogéneo con un único valor de carga se puede aislar de la mezcla de conjugación por electroforesis o cromatografía.

d) Determinados procedimientos de preparación de inmunoconjugados

Se puede preparar un ADC de fórmula I por varias vías empleando reacciones químicas orgánicas, condiciones y reactivos conocidos por los expertos en la técnica, incluyendo: (1) reacción de un grupo nucleófilo de un anticuerpo con un reactivo conector bivalente para formar Ab-L por medio de un enlace covalente, seguido de reacción con un resto de fármaco D; y (2) reacción de un grupo nucleófilo de un resto de fármaco con un reactivo conector bivalente, para formar D-L, por medio de un enlace covalente, seguido de reacción con un grupo nucleófilo de un anticuerpo. Los procedimientos ejemplares para preparar un ADC de fórmula I por medio de la última vía se describen en el documento US 7498298.

Los grupos nucleófilos en los anticuerpos incluyen, pero no se limitan a: (i) grupos amina N terminales, (ii) grupos amina de cadena lateral, por ejemplo, lisina, (iii) grupos tiol de cadena lateral, por ejemplo, cisteína, y (iv) grupos hidroxilo o amino glucídicos cuando el anticuerpo está glucosilado. Los grupos amina, tiol e hidroxilo son nucleófilos y pueden reaccionar para formar enlaces covalentes con grupos electrófilos en restos conectores y reactivos conectores incluyendo: (i) ésteres activos, tales como ésteres NHS, ésteres HOBt, haloformatos y haluros de ácido; (ii) haluros de alquilo y bencilo, tales como haloacetamidas; y (iii) aldehídos, cetonas, grupos carboxilo y maleimido. Determinados anticuerpos tienen disulfuros intercatenarios reducibles, es decir, puentes de cisteína. Los anticuerpos se pueden hacer reactivos para la conjugación con reactivos conectores por tratamiento con un agente reductor tal como DTT (ditiotreitól) o tricarbonyltilfosfina (TCEP), de modo que el anticuerpo se reduzca total o parcialmente. Por tanto, cada puente de cisteína formará, teóricamente, dos nucleófilos tiol reactivos. Se pueden introducir grupos nucleófilos adicionales en anticuerpos a través de modificación de residuos de lisina, por ejemplo, haciendo reaccionar residuos de lisina con 2-iminotiolano (reactivo de Traut), dando como resultado la conversión de una amina en un tiol. Los grupos tiol reactivos también se pueden introducir en un anticuerpo introduciendo uno, dos, tres, cuatro o más residuos de cisteína (por ejemplo, preparando anticuerpos variantes que comprenden uno o más residuos aminoácidos de cisteína no naturales).

Los conjugados anticuerpo-fármaco también se pueden producir por reacción entre un grupo electrófilo en un anticuerpo, tal como un grupo carbonilo de aldehído o cetona, con un grupo nucleófilo en un reactivo o fármaco conector. Los grupos nucleófilos útiles en un reactivo conector incluyen, pero no se limitan a, hidracida, oxima, amino, hidracina, tiosemicarbazona, carboxilato de hidracina y arilhidracida. En un ejemplo, un anticuerpo se modifica para introducir restos electrófilos que pueden reaccionar con sustituyentes nucleófilos en el reactivo o fármaco conector. En otro ejemplo, los glucídicos de anticuerpos glucosilados se pueden oxidar, por ejemplo, con reactivos oxidantes de peryodato, para formar grupos aldehído o cetona que pueden reaccionar con el grupo amina de reactivos conectores o restos de fármaco. Los grupos de base de Schiff imina resultantes pueden formar un enlace estable, o se pueden reducir, por ejemplo, por reactivos de borohidruro para formar enlaces de amina estables. En un modo de realización, la reacción de la porción carbohidrato de un anticuerpo glucosilado con galactosa oxidasa o con metaperyodato de sodio puede proporcionar grupos carbonilo (aldehído y cetona) en el anticuerpo que pueden reaccionar con grupos apropiados en el fármaco (Hermanson, Bioconjugate Techniques). En otro modo de realización, los anticuerpos que contienen residuos de serina o treonina N terminales pueden reaccionar con metaperyodato de sodio, dando como resultado la producción de un aldehído en lugar del primer aminoácido (Geoghegan y Stroh, (1992) *Bioconjugate Chem.* 3:138-146; documento US 5362852). Un aldehído de este tipo se puede hacer reaccionar con un resto de fármaco o nucleófilo conector.

Los grupos nucleófilos ejemplares en un resto de fármaco incluyen, pero no se limitan a: grupos amina, tiol, hidroxilo, hidracida, oxima, hidracina, tiosemicarbazona, carboxilato de hidracina y arilhidracida que pueden reaccionar para formar enlaces covalentes con grupos electrófilos en restos conectores y reactivos conectores incluyendo: (i) ésteres activos, tales como ésteres NHS, ésteres HOBt, haloformatos y haluros de ácido; (ii) haluros de alquilo y bencilo, tales como haloacetamidas; (iii) aldehídos, cetonas, grupos carboxilo y maleimido.

Los reactivos de reticulación ejemplares no limitantes que se pueden usar para preparar ADC se describen en el presente documento en la sección titulada "Conectores ejemplares". Los procedimientos de uso de dichos reactivos reticuladores para unir dos restos, incluyendo un resto proteínico y un resto químico, son conocidos en la técnica. En algunos ejemplos, se puede preparar una proteína de fusión que comprende un anticuerpo y un agente citotóxico, por

ejemplo, por técnicas recombinantes o síntesis peptídica. Una molécula de ADN recombinante puede comprender regiones que codifican el anticuerpo y porciones citotóxicas del conjugado adyacentes entre sí o bien separadas por una región que codifica un péptido conector que no destruye las propiedades deseadas del conjugado.

- 5 Aún en otro ejemplo, un anticuerpo se puede conjugar con un "receptor" (tal como estreptavidina) para su utilización en la preselección tumoral en el que el conjugado anticuerpo-receptor se administra al paciente, seguido de la retirada del conjugado no unido de la circulación usando un agente de aclaramiento y a continuación la administración de un "ligando" (por ejemplo, avidina) que se conjuga con un agente citotóxico (por ejemplo, un fármaco o radionucleótido).

10 **F. Procedimientos y composiciones para diagnóstico y detección**

También se describen procedimientos y composiciones para el diagnóstico y/o detección de anticuerpos CD79b para su uso en los procedimientos descritos en el presente documento, incluyendo detectar la presencia de CD79b en una muestra biológica para su uso en la selección de pacientes para el tratamiento usando los procedimientos descritos en el presente documento. El término "detectar" como se usa en el presente documento engloba detección cuantitativa o cualitativa. Una "muestra biológica" comprende, por ejemplo, una célula o tejido.

En un ejemplo, se proporciona un anticuerpo anti-CD79b para su uso en un procedimiento de diagnóstico o detección. En determinados ejemplos, el procedimiento comprende poner en contacto la muestra biológica con un anticuerpo anti-CD79b como se describe en el presente documento en condiciones permisivas para la unión del anticuerpo anti-CD79b a CD79b, y detectar si se forma un complejo entre el anticuerpo anti-CD79b y CD79b en la muestra biológica. Dicho procedimiento puede ser un procedimiento *in vitro* o *in vivo*. En un ejemplo, se usa un anticuerpo anti-CD79b para seleccionar sujetos aptos para el tratamiento con un anticuerpo anti-CD79b, por ejemplo, si CD79b es un biomarcador para la selección de pacientes. En otro modo de realización, la muestra biológica es una célula y/o tejido (por ejemplo, médula ósea y/o sangre).

En otro ejemplo, se usa un anticuerpo anti-CD79b *in vivo* para detectar, por ejemplo, por formación de imágenes *in vivo*, un cáncer positivo para CD79b en un sujeto, por ejemplo, para los propósitos de diagnosticar, pronosticar o estadificar el cáncer, determinar curso apropiado de tratamiento o realizar un seguimiento de la respuesta de un cáncer al tratamiento. Un procedimiento conocido en la técnica para la detección *in vivo* es la inmuno-tomografía por emisión de positrones (inmuno-PET), como se describe, por ejemplo, en van Dongen *et al.*, *The Oncologist* 12:1379-1389 (2007) y Verel *et al.*, *J. Nucl. Medicina*. 44:1271-1281 (2003). En dichos ejemplos, se proporciona un procedimiento para detectar un cáncer positivo para CD79b en un sujeto, comprendiendo el procedimiento administrar un anticuerpo anti-CD79b marcado a un sujeto que tiene o que se sospecha que tiene un cáncer positivo para CD79b y detectar el anticuerpo anti-CD79b marcado en el sujeto, en el que la detección del anticuerpo anti-CD79b marcado indica un cáncer positivo para CD79b en el sujeto. En determinados ejemplos, el anticuerpo anti-CD79b marcado comprende un anticuerpo anti-CD79b conjugado con un emisor de positrones, tal como ^{68}Ga , ^{18}F , ^{64}Cu , ^{86}Y , ^{76}Br , ^{89}Zr y ^{124}I . En un ejemplo particular, el emisor de positrones es ^{89}Zr .

En otros ejemplos, un procedimiento de diagnóstico o detección comprende poner en contacto un primer anticuerpo anti-CD79b inmovilizado en un sustrato con una muestra biológica que se va a someter a prueba para detectar la presencia de CD79b, exponer el sustrato a un segundo anticuerpo anti-CD79b y detectar si el segundo anti-CD79b se une a un complejo entre el primer anticuerpo anti-CD79b y CD79b en la muestra biológica. Un sustrato puede ser cualquier medio de soporte, por ejemplo, vidrio, metal, cerámica, perlas poliméricas, portaobjetos, chips y otros sustratos. En determinados ejemplos, una muestra biológica comprende una célula o tejido (por ejemplo, sangre y/o médula ósea). En determinados ejemplos, el primer o segundo anticuerpo anti-CD79b es cualquiera de los anticuerpos descritos en el presente documento.

Los trastornos ejemplares que se pueden diagnosticar o detectar de acuerdo con cualquiera de los modos de realización anteriores incluyen cánceres positivos para CD79b, tales como linfoma, linfoma no hodgkiniano (LNH), LNH de gran malignidad, LNH de gran malignidad recidivante, LNH de escasa malignidad recidivante, LNH resistente al tratamiento, LNH de escasa malignidad resistente al tratamiento, leucemia linfocítica crónica (LLC), linfoma linfocítico de células pequeñas, leucemia, tricoleucemia (TL), leucemia linfocítica aguda (LLA), linfoma de Burkitt, linfoma difuso de linfocitos B (DLDB) y linfoma de células del manto, en particular, LNH, linfoma folicular y/o DBCL. En algunos modos de realización, un cáncer positivo para CD79b es un cáncer que expresa CD79b de acuerdo con un ensayo de PCR de transcriptasa inversa (RT-PCR) que detecta el ARNm de CD79b. En algunos modos de realización, la RT-PCR es RT-PCR cuantitativa.

En determinados ejemplos, se proporcionan anticuerpos anti-CD79b marcados para su uso en los procedimientos descritos en el presente documento. 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-dihidroftalacindionas, 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, acopladas 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. En otro modo de realización, un marcador es un emisor de positrones. Los emisores de positrones incluyen pero no se limitan a ^{68}Ga , ^{18}F , ^{64}Cu , ^{86}Y , ^{76}Br , ^{89}Zr y ^{124}I . En un modo de realización particular, un emisor de positrones es ^{89}Zr .

G. Formulaciones farmacéuticas

Las formulaciones farmacéuticas de cualquiera de los agentes descritos en el presente documento (por ejemplo, inmunoconjugados anti-CD79b) para su uso en cualquiera de los procedimientos descritos en el presente documento se preparan mezclando dicho anticuerpo o inmunoconjugado 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 bencílico; alquilparabenos tales como metil o propilparabeno; catecol; resorcinol; ciclohexanol; 3-pentanol; y m-cresol); polipéptidos de bajo peso molecular (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 sal tales como sodio; complejos metálicos (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 de fármacos intersticiales tales como glucoproteínas hialuronidasas activas a pH neutro solubles (sHASEGP), por ejemplo, glucoproteínas hialuronidasas a pH-20 solubles humanas, tales como rHuPH20 (HYLENEX®, Baxter International, Inc.). Determinadas sHASEGP ejemplares y procedimientos de uso, incluyendo rHuPH20, se describen en las publicaciones de patente de EE. UU. n.º 2005/0260186 y 2006/0104968. En un aspecto, una sHASEGP se combina con una o más glucosaminoglucanasas adicionales, tales como condroitinasas.

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

La formulación en el presente documento también puede contener más de un ingrediente activo según sea necesario para la indicación particular que se está tratando, preferentemente aquellos con actividades complementarias que no se vean afectadas de forma adversa entre sí.

Se pueden atrapar ingredientes activos en microcápsulas preparadas, por ejemplo, por técnicas de coacervación o por polimerización interfacial, por ejemplo, microcápsulas de hidroximetilcelulosa o gelatina y microcápsulas de poli(metacrilato de metilo), respectivamente, en sistemas de suministro de fármaco 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 o inmunoconjugado, matrices que están 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 lograr fácilmente la esterilidad, por ejemplo, por filtración a través de membranas de filtración estériles.

H. Artículos de fabricación

En otro ejemplo, 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 de envase en o asociado con el recipiente. Los recipientes adecuados incluyen, por ejemplo, frascos, viales, jeringuillas, bolsas con solución i.v., etc. Los recipientes se pueden formar 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 el trastorno y puede tener una vía de acceso estéril (por ejemplo, el recipiente puede ser una bolsa con solución intravenosa o un vial que tiene un tapón perforable por una aguja de inyección hipodérmica). Al menos un agente activo en la composición es un anticuerpo o inmunoconjugado de la invención. La ficha técnica o prospecto de 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 o inmunoconjugado; y (b) un segundo recipiente con una composición contenida en el mismo, en el que la composición comprende otro agente citotóxico o terapéutico de otro modo. El artículo de fabricación puede comprender además un prospecto de 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 comprende un tampón farmacéuticamente aceptable, tal como agua bacteriostática para inyectables (BWFI), solución salina tamponada con fosfato, solución de Ringer o solución de dextrosa. Puede incluir además otros materiales deseables desde un punto de vista comercial y de usuario, incluyendo otros tampones, diluyentes, filtros, agujas y jeringuillas.

EJEMPLOS

Ejemplo 1- Inmunoconjugado anti-CD79b en combinación con anticuerpo anti-CD20 más agente alquilante (bendamustina) en linfoma

La eficacia de combinación del inmunoconjugado anti-CD79b (ADC anti-CD79b (huMA79b.v28)-MC-vc-PAB-MMAE; polatuzumab vedotin; Pola; DCDS4501A) con anticuerpo anti-CD20 (rituximab) y bendamustina se evaluó en un modelo de xenoinjerto tumoral de linfoma difuso de linfocitos B grandes humano WSU-DLCL2.

Se inocularon subcutáneamente ratones SCID CB-17 hembra (11-12 semanas de edad de Charles River Laboratories; Hollister, CA) cada uno en el costado con 20 millones de células WSU-DLCL2 (DSMZ, German Collection of Microorganisms and Cell Cultures; Braunschweig, Alemania). Cuando los tumores de xenoinjerto alcanzaron el volumen deseado, los animales se aleatorizaron en grupos de 9 ratones cada uno y recibieron una dosis única de tratamientos (denominado día 0). El anticuerpo anti-CD20 (rituximab) se administró por vía intraperitoneal a 30 mg/kg. ADC anti-CD79b-MMAE y bendamustina se administraron por vía intravenosa a 2 y 30 mg/kg, respectivamente.

Los tumores se midieron 1-2 veces a la semana durante todo el estudio usando calibradores UltraCal-IV y el volumen tumoral se calculó usando la siguiente fórmula: volumen tumoral (mm^3) = $0,5a \times b^2$, en la que a y b son los diámetros largo y corto del tumor, respectivamente.

Para analizar apropiadamente la medición repetida de los volúmenes tumorales de los mismos animales con el tiempo, se usó un enfoque de modelado mixto (Pinheiro J, *et al.* nlme: linear and nonlinear mixed effects models. 2009; paquete R, versión 3.1-96). Este enfoque abordó tanto las mediciones repetidas como las tasas de abandono moderadas debido a la retirada de animales no relacionada con el tratamiento antes del final del estudio. Se usaron esplines de regresión cúbica para ajustar un perfil no lineal a los cursos temporales del volumen tumoral $\log_2$ en cada nivel de dosis. Estos perfiles no lineales se relacionaron a continuación con la dosis dentro del modelo mixto. Los resultados se representaron como el volumen tumoral ajustado de cada grupo con el tiempo.

En este estudio, como se muestra en la figura 1, el ADC anti-CD79b-MMAE demostró una clara inhibición del crecimiento tumoral, y la actividad antitumoral fue comparable con la combinación de rituximab y bendamustina a las dosis sometidas a prueba. Además, la combinación triple de ADC anti-CD79b-MMAE con rituximab y bendamustina dio como resultado una eficacia significativamente mayor que el ADC o el doblete de rituximab/bendamustina solo.

Ejemplo 2- Un estudio de CD79b-MC-vc-PAB-MMAE en combinación con anticuerpo anti-CD20 (rituximab u obinutuzumab) más agente alquilante (bendamustina) en pacientes con linfoma de linfocitos B grandes folicular o difuso recidivante o resistente al tratamiento

Se inició un estudio abierto, multicéntrico, de polatuzumab vedotin (anti-CD79b (huMA79b.v28)-MC-vc-PAB-MMAE; "Pola") administrado por infusión intravenosa (i.v.) en combinación con dosis estándar de bendamustina (B) y rituximab (R) u obinutuzumab (G) en pacientes con linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL) o linfoma folicular (FL) recidivante o resistente al tratamiento. El estudio comprende la etapa de aumento de dosis de primera etapa, etapa 2 y etapa 3, y el tiempo de tratamiento fue de 18-24 semanas.

En la primera etapa, se incluyeron pacientes con FL y DLBCL en cohortes separadas para el aumento de dosis de Pola en combinación con R y B o G y B. Se administró Pola por vía intravenosa el día 2 del ciclo 1, a continuación el día 1 de cada ciclo posterior en 1,8 mg/kg. R se administró a una dosis de 375 mg/m² por vía intravenosa el día 1 del ciclo 1 y el día 1 de cada ciclo posterior durante un máximo de seis ciclos. B se administró por vía intravenosa (90 mg/m²) los días 2 y 3 del ciclo 1, a continuación los días 1 y 2 de cada ciclo posterior. G se administró por vía intravenosa (1000 mg) los días 1, 8 y 15 del ciclo 1 y el día 1 de cada ciclo posterior durante un máximo de seis ciclos. La tasa de respuesta completa (RC) se midió por tomografía por emisión de positrones (PET) y se determina por una Junta de Revisión Institucional.

En la segunda etapa, las cohortes de FL y DLBCL separadas aleatorizadas recibieron (a) Pola en combinación con R y B o (b) R y B solo. R se administró a una dosis de 375 mg/m² por vía intravenosa el día 1 del ciclo 1 y el día 1 de cada ciclo posterior durante un máximo de seis ciclos. B se administró por vía intravenosa (90 mg/m²) los días 2 y 3 del ciclo 1, a continuación los días 1 y 2 de cada ciclo posterior.

En la tercera etapa, las cohortes de FL y DLBCL separadas no aleatorizadas recibieron Pola en combinación con G y B. B se administró por vía intravenosa (90 mg/m²) los días 2 y 3 del ciclo 1, a continuación los días 1 y 2 de cada ciclo posterior. G se administró por vía intravenosa (1000 mg) los días 1, 8 y 15 del ciclo 1 y el día 1 de cada ciclo posterior durante un máximo de seis ciclos. La tasa de respuesta completa (RC) se midió por tomografía por emisión de positrones (PET) y se determinó por una Junta de Revisión Institucional.

Los criterios de inclusión para pacientes en el estudio incluyeron:

FL (grado 1, 2 o 3a) o DLBCL confirmado histológicamente

Debe haber recibido al menos un tratamiento previo para FL o DLBCL. Los pacientes deben haber recaído o bien haberse vuelto resistentes al tratamiento a un régimen previo como se define a continuación:

(a) FL recidivante/resistente al tratamiento: pacientes con linfoma folicular (FL) recidivante/resistente al tratamiento que han recaído a régimen/regímenes previo(s) después de tener antecedentes documentados de respuesta (respuesta completa [RC], RC no confirmada [RCn] o respuesta parcial [RP]) de ≥ 6 meses de duración desde la finalización del/de los régimen/regímenes; resistente al tratamiento a cualquier régimen previo, definido como la no respuesta al tratamiento previo, o progresión dentro de los 6 meses de finalización de la última dosis de tratamiento.

(b) DLBCL recidivante/resistente al tratamiento: pacientes que no son aptos para trasplante de células madre (SCT) de segunda línea, con progresión tumoral o sin respuesta (enfermedad estable [EE]) < 6 meses desde el inicio del tratamiento inicial; pacientes que no fueron aptos para SCT de segunda línea, con recidiva de la enfermedad después de una respuesta inicial de ≥ 6 meses desde el inicio del tratamiento inicial; pacientes que no son aptos para SCT de tercera línea (o más), con progresión tumoral o sin respuesta (EE) < 6 meses desde el inicio del tratamiento previo; pacientes que no fueron aptos para SCT de tercera línea (o más allá) con recidiva de la enfermedad después de una respuesta inicial de ≥ 6 meses desde el inicio del tratamiento previo.

- Si el paciente ha recibido bendamustina previa, la duración de la respuesta debe haber sido > 1 año (para pacientes que tienen recidiva de la enfermedad después de un régimen previo).

- Al menos una lesión medible bidimensionalmente en diagnóstico por la imagen definida como $> 1,5$ cm en su dimensión más larga; disponibilidad confirmada de tejido tumoral de archivo o recién recogido que cumple con las especificaciones definidas por el protocolo antes de la inclusión en el estudio; esperanza de vida de al menos 24 semanas; estado funcional del Grupo Oncológico Cooperativo de la Costa Este (ECOG) de 0, 1 o 2; función hemática adecuada; y, para mujeres en edad fértil, un resultado de prueba de embarazo en suero negativo dentro de los 7 días previos al comienzo de la dosificación.

Los criterios de exclusión para pacientes en estudio incluyeron: antecedentes de reacciones alérgicas o anafilácticas graves a anticuerpos monoclonales humanizados o murinos (MAb o proteínas de fusión relacionadas con anticuerpos recombinantes) o sensibilidad o alergia conocida a productos murinos, contraindicación a bendamustina, rituximab u obinutuzumab, antecedentes de sensibilidad al manitol, uso previo de ningún MAb, radioinmunoconjugado o conjugado anticuerpo-fármaco (ADC) dentro de las 4 semanas antes del ciclo 1 día 1, tratamiento con radioterapia, quimioterapia, inmunoterapia, tratamiento inmunosupresor o cualquier agente de en fase de investigación clínica para los propósitos de tratar el cáncer dentro de las 2 semanas previas al ciclo 1 día 1, uso continuo de corticoesteroides > 30 mg/día de prednisona o equivalente, para propósitos distintos al control de síntomas de linfoma, finalización de SCT autólogo dentro de 100 días antes del ciclo 1 día 1, SCT alógeno previo, elegibilidad para SCT autólogo (pacientes con DLBCL recidivante/resistente al tratamiento), FL grado 3b, antecedentes de transformación de enfermedad de escasa malignidad a DLBCL, linfoma de SNC primario, neuropatía periférica actual de grado > 1 , pruebas de enfermedades concomitantes no controladas significativas que podrían afectar el cumplimiento del protocolo o la interpretación de resultados, incluyendo cardiopatía significativa (tal como cardiopatía de clase III o IV según la Asociación Cardiológica de Nueva York, infarto de miocardio en los últimos 6 meses, arritmias inestables o angina inestable) o neumopatía significativa (incluyendo neumopatía obstructiva y antecedentes de broncoespasmo), infección bacteriana, vírica, fúngica, micobacteriana, parasitaria u otra activa conocida (excluyendo infecciones fúngicas de lechos ungueales) en la inclusión al estudio o cualquier episodio importante de infección que requiere tratamiento con antibióticos intravenosos (i.v.) u hospitalización dentro de las 4 semanas previas al ciclo 1 día 1, pacientes con latencia o sospecha de tuberculosis, resultados de pruebas positivos para infección por virus de la hepatitis B (VHB) crónica o para anticuerpo frente al virus de la hepatitis C (VHC), infección conocida con VIH o virus de la leucemia de linfocitos T humana 1 (HTLV-1), mujeres embarazadas o lactantes o que pretenden quedarse embarazadas dentro de un año de la última dosis de rituximab u obinutuzumab, pruebas de anomalías de laboratorio en pruebas de función renal, hepática o de coagulación estándar.

La combinación de PoV, rituximab u obinutuzumab y bendamustina fue en general segura y tolerable.

Ejemplo 3- Inmunoconjugado anti-CD79b en combinación con inhibidor de Bcl2 en linfoma

La eficacia combinada de ADC anti-CD79b-MMAE (DCDS4501A) con un inhibidor de Bcl2 selectivo (ABT-199 (es

decir, venetoclax, GDC-0199, 4-(4-([2-(4-clorofenil)-4,4-dimetilciclohex-1-en-1-il]metil)piperacina-1-il)-N-((3-nitro-4-[(tetrahidro-2H-piran-4-ilmetil)amino]fenil)sulfonyl)-2-(1H-pirrol-2-il)piridin-5-il)benzamida, y/o n.º CAS 1257044-40-8) se evaluó en un modelo de xenoinjerto tumoral de linfoma de células del manto humano Granta-519.

Se inocularon ratones SCID CB-17 hembra (8 semanas de edad de Charles River Laboratories; Hollister, CA) cada uno en el costado con 20 millones de células Granta-519. Cuando los tumores de xenoinjerto alcanzaron el volumen deseado, los animales se aleatorizaron en grupos de 9 ratones cada uno y recibieron tratamientos (día 0 del estudio). ADC anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE se dosificó una vez por vía intravenosa a 1 mg/kg y ABT-199 se administró por vía oral una vez al día durante 21 días a 100 mg/kg.

Los tumores se midieron 1-2 veces a la semana durante todo el estudio usando calibradores UltraCal-IV y el volumen tumoral se calculó usando la siguiente fórmula: volumen tumoral (mm^3) = $0,5a \times b^2$, en la que a y b son los diámetros largo y corto del tumor, respectivamente.

Para analizar apropiadamente la medición repetida de los volúmenes tumorales de los mismos animales con el tiempo, se usó un enfoque de modelado mixto (Pinheiro J, *et al.* nlme: linear and nonlinear mixed effects models. 2009; paquete R, versión 3.1-96). Este enfoque aborda tanto las mediciones repetidas como las tasas de abandono moderadas debido a la retirada de animales no relacionada con el tratamiento antes del final del estudio. Se usaron esplines de regresión cúbica para ajustar un perfil no lineal a los cursos temporales del volumen tumoral $\log_2$ en cada nivel de dosis. Estos perfiles no lineales se relacionaron a continuación con la dosis dentro del modelo mixto. Los resultados se representaron como el volumen tumoral ajustado de cada grupo con el tiempo.

En este estudio, como se muestra en la figura 2, el tratamiento con ADC anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE solo provocó un retraso del crecimiento tumoral moderado mientras que la monoterapia con ABT-199 no dio como resultado actividad antitumoral. Sin embargo, la combinación de ADC anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE y ABT-199 dio como resultado una mayor eficacia, provocando regresiones tumorales, que cualquier agente solo. La combinación de ADC anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE y ABT-199 fue bien tolerada en base a cambios mínimos en los pesos corporales de los animales durante el período de tratamiento.

Ejemplo 4- Inmunoconjugado anti-CD79b en politerapia en linfoma

La eficacia de combinación de ADC anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE (DCDS4501A; huMA79bv28-MC-vc-PAB-MMAE) con diversas politerapias se evaluó en un modelo de xenoinjerto tumoral de WSU-DLCL2 (DLBCL).

Se inocularon ratones SCID CB-17 hembra (14 semanas de edad de Charles River Laboratories; Hollister, CA) cada uno en el costado con 20 millones de células WSU-DLCL2 (DLBCL). Cuando los tumores de xenoinjerto alcanzaron el volumen deseado, los animales se aleatorizaron y recibieron tratamientos (día 0 del estudio). Hubo seis grupos de tratamiento (1) vehículo, (2) anti-CD79b-vcMMAE, (3) G-CHP (GA101-ciclofosfamida, doxorubicina y prednisona), (4) G-bendamustina (GA101-bendamustina), (5) G-CHP (GA101-ciclofosfamida, doxorubicina y prednisona) + anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE, y (6) G-bendamustina (GA101-bendamustina) + anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE.

ADC CD79b-MC-vc-PAB-MMAE se dosificó una vez por vía intravenosa a 2 mg/kg, i.v., una vez. GA101 se dosificó 30 mg/kg, i.p., una vez. CHP se dosificó ciclofosfamida, 30 mg/kg, i.v., una vez + doxorubicina, 2,475 mg/kg, i.v., una vez + prednisona, 0,15 mg/kg, v.o., $qdx5$. Bendamustina se dosificó 30 mg/kg, i.v., una vez.

Como se describe anteriormente, los tumores se midieron 1-2 veces a la semana durante todo el estudio usando calibradores UltraCal-IV y el volumen tumoral se calculó usando la siguiente fórmula: volumen tumoral (mm^3) = $0,5a \times b^2$, en la que a y b son los diámetros largo y corto del tumor, respectivamente.

En este estudio, como se muestra en la figura 3A, el tratamiento con ADC anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE se combinó bien con G-CHP (o G-Benda) con mejor eficacia que el ADC anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE o G-CHP (o G-Benda) solo. Las combinaciones se toleraron bien en base a cambios mínimos en los pesos corporales de los animales durante el período de tratamiento.

Ejemplo 5- Inmunoconjugado anti-CD79b en politerapia en linfoma

La eficacia de combinación de ADC anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE (DCDS4501A; huMA79bv28-MC-vc-PAB-MMAE) con diversas politerapias se evaluó en un modelo de xenoinjerto tumoral de TMD8 (ABC-DLBCL).

Se inocularon ratones SCID CB-17 hembra (13 semanas de edad de Charles River Laboratories; Hollister, CA) cada uno en el costado con 5 millones de células TMD8 (ABC-DLBCL). Cuando los tumores de xenoinjerto alcanzaron el volumen deseado, los animales se aleatorizaron y recibieron tratamientos (día 0 del estudio). Hubo siete grupos de tratamiento (1) vehículo, (2) GA101, (3) anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE, (4) lenalidomida, (5) GA101 + anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE, (6) GA101 + lenalidomida, y (7) GA101 + lenalidomida + anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE. ADC CD79b-MC-vc-PAB-MMAE se dosificó una vez por vía intravenosa a 2 mg/kg, i.v., una vez. GA101 se dosificó 1 mg/kg, i.p., $qwx3$. Lenalidomida se administró a 20 mg/kg, v.o., ($qdx5$)x3.

Como se describe anteriormente, los tumores se midieron 1-2 veces a la semana durante todo el estudio usando calibradores UltraCal-IV y el volumen tumoral se calculó usando la siguiente fórmula: volumen tumoral (mm^3) = $0,5a \times b^2$, en la que a y b son los diámetros largo y corto del tumor, respectivamente.

La literatura (Br J Haematol 2013 Zhang *et al.*) informó que la lenalidomida suprime preferentemente el crecimiento del subtipo de tipo B de linfocitos B activado (ABC), con un efecto mínimo sobre las células distintas de ABC-DLBCL. En este estudio usando ABC-DLBCL, como se muestra en la figura 3B, el tratamiento con monoterapia de lenalidomida mostró poca eficacia en este modelo. Además, combinando lenalidomida con GA101 no proporcionó eficacia adicional sobre GA101 solo. Sin embargo, el uso de ADC anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE solo o en combinación en el subtipo ABC mostró una fuerte eficacia con la regresión tumoral. Además, todos los tratamientos se toleraron bien.

Ejemplo 6- Inmunoconjugado anti-CD79b en politerapia en linfoma

La eficacia de combinación de ADC anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE (DCDS4501A; huMA79bv28-MC-vc-PAB-MMAE) con diversas politerapias se evaluó en un modelo de xenoinjerto tumoral de WSU-DLCL2 (DLBCL).

Se inocularon ratones SCID CB-17 hembra (13 semanas de edad de Charles River Laboratories; Hollister, CA) cada uno en el costado con 20 millones de células WSU-DLCL2 (DLBCL). Cuando los tumores de xenoinjerto alcanzaron el volumen deseado, los animales se aleatorizaron y recibieron tratamientos (día 0 del estudio). Hubo doce grupos de tratamiento (1) vehículo, (2) GA101, (3) Bcl2i (GDC-199), (4) PI3Ki (GDC-032), (5) ADC anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE, (6) GA101 + anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE, (7) GA101 + Bcl2i (GDC-199), (8) GA101 + PI3Ki (GDC-032), (9) GA101 + Bcl2i (GDC-199) + anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE, (10) GA101 + PI3Ki (GDC-032) + anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE, (11) rituximab, y (12) rituximab + anti-CD79b-MC-vc-PAB-MMAE.

ADC CD79b-MC-vc-PAB-MMAE se dosificó una vez por vía intravenosa a 2 mg/kg, i.v., una vez. GA101 se dosificó 30 mg/kg, i.p., una vez. El inhibidor de Bcl2, GDC-199, se dosificó a 100 mg/kg, v.o., *qdx21*. El inhibidor de PI3K, GDC-032 se dosificó a 10 mg/kg, v.o., *qdx21*. Rituximab se dosificó a 30 mg/kg, i.p., una vez.

Como se describe anteriormente, los tumores se midieron 1-2 veces a la semana durante todo el estudio usando calibradores UltraCal-IV y el volumen tumoral se calculó usando la siguiente fórmula: volumen tumoral (mm^3) = $0,5a \times b^2$, en la que a y b son los diámetros largo y corto del tumor, respectivamente. Los resultados se muestran en la figura 4. En este estudio, el inhibidor de Bcl2, GDC-0199, inhibidor de PI3K, GDC-0032 y monoterapia anti-CD20 (GA101 o Rituximab) a las dosis sometidas a prueba tuvieron poco efecto sobre el crecimiento tumoral. Sin embargo, la eficacia se hizo más evidente al combinar el inhibidor de Bcl2, GDC-0199 con anti-CD20, GA101. Además, entre todos los diferentes tratamientos evaluados, la combinación triple de anti-CD79b-vcMMAE, GA101 e inhibidor de Bcl2 presentó la mayor eficacia, provocando la remisión tumoral completa.

Ejemplo 7- Inmunoconjugado anti-CD79b en combinación con Venetoclax

Este estudio evaluará la eficacia, seguridad y farmacocinética de la combinación de obinutuzumab (GA101 o G) más polatuzumab vedotin (ADC anti-CD79b(huMA79b.v23)-MC-vc-PAB-MMAE (DCDS4501A) o pola) más un inhibidor de Bcl2 selectivo (ABT-199 (es decir, venetoclax, GDC-0199, 4-(4-([2-(4-clorofenil)-4,4-dimetilciclohex-1-en-1-il]metil)piperacina-1-il)-N-([3-nitro-4-([tetrahidro-2H-piran-4-ilmetil]amino)fenil]sulfonil)-2-(1H-pirrol[2,3-b]piridin-5-iloxi)benzamida, V y/o n.º CAS 1257044-40-8) (G + pola + V) en pacientes con linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL) o linfoma folicular (FL) recidivante o resistente al tratamiento (R/R).

Objetivos de eficacia: La respuesta se determinará en base a tomografías por emisión de positrones y tomografías computarizadas (PET-TAC) o TAC solas, usando los Criterios de respuesta de Lugano revisados para linfoma maligno, a continuación en el presente documento denominados criterios de Lugano 2014. La respuesta se determinará por un Comité de Revisión Independiente (IRC) y por el investigador. El objetivo de eficacia primario para este estudio es evaluar la eficacia de G + Pola + V en base al siguiente criterio de valoración: respuesta completa (RC) al final de la inducción (EOI), como se determina por el IRC en base a PET-TAC.

El objetivo de eficacia secundario para este estudio es evaluar la eficacia de G + Pola + V en base a los siguientes criterios de valoración: RC en EOI, como se determina por el investigador en base a PET-TAC, RC en EOI, como se determina por el investigador en base a TAC solas, respuesta objetiva (definida como RC o respuesta parcial [RP]) en EOI, como se determina por el IRC y por el investigador en base a PET-TAC, respuesta objetiva (definida como RC o RP) en EOI, como se determina por el IRC y el investigador en base a TAC solas, mejor respuesta de RC o RP durante el estudio, como se determina por el investigador en base a TAC solas.

El objetivo de eficacia explorador para este estudio es evaluar la eficacia a largo plazo de G + Pola + V en base a los siguientes criterios de valoración: para pacientes que tienen PET positivas en EOI: RC a los 12 meses, como se determina por el IRC y por el investigador en base a PET-TAC, supervivencia sin progresión, definida como el tiempo desde el inicio del tratamiento de estudio hasta la primera aparición de progresión o recidiva de enfermedad, como se determina por el investigador en base a TAC solas, o muerte por cualquier causa, supervivencia sin sucesos, definida

como el tiempo desde el inicio del tratamiento de estudio hasta cualquier fracaso terapéutico, incluyendo la progresión o recidiva de enfermedad, como se determina por el investigador en base a TAC solas, inicio de nuevo tratamiento contra el linfoma, o muerte por cualquier causa, lo que se produzca primero, supervivencia sin enfermedad, definida, entre pacientes que logran una RC, como el tiempo desde la primera aparición de una RC documentada hasta una recidiva, como se determina por el investigador en base a TAC solas, o muerte por cualquier causa, lo que se produzca primero, supervivencia global, y definida como el tiempo desde el inicio del tratamiento de estudio hasta la muerte por cualquier causa.

Todos los pacientes incluidos en la fase de aumento de dosis recibirán un tratamiento de inducción, administrado en ciclos de 21 días. Cuando los tratamientos del estudio se administran el mismo día, se administrarán secuencialmente en el siguiente orden: venetoclax, obinutuzumab y polatuzumab vedotin.

Ciclo 1:

• Venetoclax 400, 600 u 800 mg por vía oral (v.o.) una vez al día los días 1-21

• Obinutuzumab 1000 mg i.v. los días 1, 8 y 15

• Polatuzumab vedotin 1,4 o 1,8 mg/kg por vía intravenosa (i.v.) el día 1

Ciclos 2-6:

• Venetoclax 400, 600 u 800 mg v.o. una vez al día los días 1-21

• Obinutuzumab 1000 mg i.v. el día 1

• Polatuzumab vedotin 1,4 o 1,8 mg/kg i.v. el día 1

Después de la finalización del tratamiento de inducción, los pacientes con FL continuarán recibiendo a diario tratamiento con venetoclax (durante el mes 1) hasta que se evalúe la respuesta en EOI. Venetoclax se suspenderá si las evaluaciones de respuesta en EOI indican que un paciente no es apto para el tratamiento después de la inducción (denominado mantenimiento). Los pacientes que logran una RC, RP o EE en EOI recibirán tratamiento de mantenimiento con obinutuzumab y venetoclax. Polatuzumab vedotin no se administrará como tratamiento de mantenimiento. El tratamiento de mantenimiento continuará hasta una progresión de enfermedad o toxicidad inaceptable durante hasta 24 meses. Cuando los tratamientos del estudio se administran el mismo día, venetoclax se administrará antes que obinutuzumab.

Los tratamientos se administrarán como sigue:

• Venetoclax 400, 600 u 800 mg v.o. una vez al día durante 8 meses (meses 1-8)

• Obinutuzumab 1000 mg i.v. el día 1 de cada dos meses durante 24 meses, comenzando con el mes 2 (por ejemplo, los meses 2, 4, 6, 8, etc.).

Se usará un esquema de aumento de dosis 3 + 3. La dosis de obinutuzumab permanecerá fija en 1000 mg durante la fase de aumento de dosis. Las dosis iniciales en la cohorte 1 son 1,4 mg/kg para polatuzumab vedotin y 400 mg para venetoclax. En las cohortes 2-6, el aumento de dosis de polatuzumab vedotin y venetoclax se realizará en incrementos paralelos a la magnitud de los incrementos de dosis sometidos a prueba en los ensayos en fase Ib en curso. Para polatuzumab vedotin, existen 2 niveles de dosis posibles: 1,4 o 1,8 mg/kg. Para venetoclax, existen 3 niveles de dosis posibles: 400, 600 u 800 mg. No se permite el aumento de dosis intrapaciente.

Todos los pacientes incluidos en la fase de ampliación recibirán un tratamiento de inducción, administrado en ciclos de 21 días. Cuando los tratamientos del estudio se administran el mismo día, se administrarán secuencialmente en el siguiente orden: venetoclax, obinutuzumab y polatuzumab vedotin.

Ciclo 1:

• Venetoclax a la RP2D (mg) v.o. una vez al día los días 1-21

• Obinutuzumab 1000 mg i.v. los días 1, 8 y 15

• Polatuzumab vedotin a la RP2D (mg/kg) i.v. el día 1

Ciclos 2-6:

• Venetoclax a la RP2D (mg) v.o. una vez al día los días 1-21

• Obinutuzumab 1000 mg i.v. el día 1

• Polatuzumab vedotin a la RP2D (mg/kg) i.v. el día 1

Después de la finalización del tratamiento de inducción, los pacientes continuarán recibiendo a diario tratamiento con venetoclax (durante el mes 1) hasta que se evalúe la respuesta en EOI. Venetoclax se suspenderá si las evaluaciones de respuesta en EOI indican que un paciente no es apto para el tratamiento después de la inducción. Los pacientes con DLBCL que logran una RC o RP en EOI recibirán tratamiento después de la inducción (denominado consolidación) con obinutuzumab y venetoclax, y los pacientes con FL que logran una RC, RP o EE en EOI recibirán tratamiento después de la inducción (denominado mantenimiento) con obinutuzumab y venetoclax. Polatuzumab vedotin no se administrará como tratamiento después de la inducción. El tratamiento después de la inducción continuará hasta una progresión de enfermedad o toxicidad inaceptable durante hasta 8 meses para el tratamiento de consolidación o 24 meses para el tratamiento de mantenimiento. Cuando los tratamientos del estudio se administran el mismo día, venetoclax se administrará antes que obinutuzumab.

Linfoma difuso de linfocitos B grandes: el tratamiento de consolidación que consiste en lo siguiente, administrado durante 8 meses (meses 1-8):

• Venetoclax a la RP2D (mg) v.o. una vez al día durante 8 meses (meses 1-8)

• Obinutuzumab 1000 mg i.v. el día 1 de cada dos meses, comenzando con el mes 2 (es decir, los meses 2, 4, 6 y 8)

Linfoma folicular: el tratamiento de mantenimiento que consiste en lo siguiente, administrado durante 24 meses (meses 1-24):

• Venetoclax a la RP2D (mg) v.o. una vez al día durante 8 meses (meses 1-8)

• Obinutuzumab 1000 mg i.v. el día 1 de cada dos meses durante 24 meses, comenzando con el mes 2 (por ejemplo, los meses 2, 4, 6, 8, etc.).

Criterios de inclusión: Los pacientes deben cumplir con los siguientes criterios para entrar en el estudio: declaración de consentimiento informado firmado, edad ≥ 18 años, estado funcional del Grupo Oncológico Cooperativo de la Costa Este de 0, 1 o 2, para pacientes incluidos en la fase de aumento de dosis: FL R/R después del tratamiento con al menos 1 régimen de quimioinmunoterapia previo que incluyó un anticuerpo monoclonal anti-CD20 y para el que no existe otra opción de tratamiento más apropiada, como se determina por el investigador, para pacientes incluidos en la fase de ampliación: linfoma de linfocitos B clasificado como cualquiera de los siguientes: - FL R/R después del tratamiento con al menos 1 régimen de quimioinmunoterapia previo que incluyó un anticuerpo monoclonal anti-CD20 y para el que no existe otra opción de tratamiento más apropiada, como se determina por el investigador - DLBCL R/R después del tratamiento con al menos 1 régimen de quimioinmunoterapia previo que incluyó un anticuerpo monoclonal anti-CD20, sin opción curativa como se determina por el investigador, linfoma no hodgkiniano positivo para CD20 histológicamente documentado como se determina por el laboratorio local, linfoma con avidez por fluorodesoxiglucosa (es decir, linfoma positivo para PET), al menos una lesión medible bidimensionalmente ($> 1,5$ cm en su dimensión más grande por TAC o resonancia magnética nuclear), disponibilidad de una muestra tumoral representativa y el informe de patología correspondiente para la confirmación central retrospectiva del diagnóstico de FL o DLBCL. Si el tejido de archivo no está disponible o es inaceptable, se requiere una biopsia tumoral por incisión o escisión con aguja gruesa previa al tratamiento. Las muestras citológicas o con aguja fina no son aceptables. Si el paciente recibió tratamiento contra el linfoma entre el momento de la biopsia disponible más reciente y el inicio del tratamiento del estudio, es muy recomendado una biopsia con aguja gruesa.

Criterios de exclusión: Los pacientes que cumplen cualquiera de los siguientes criterios se excluirán de la entrada en el estudio: estado negativo para CD20 conocido en recidiva o progresión, al trasplante de células madre (SCT) previo, finalización de SCT autólogo en los 100 días previos al día 1 del ciclo 1, antes tratamiento antineoplásico estándar o de investigación previo como se especifica: - radioinmunoconjugado en las 12 semanas previas al día 1 del ciclo 1, - tratamiento conjugado fármaco-anticuerpo o anticuerpo monoclonal en las 4 semanas previas al día 1 del ciclo 1, y - radioterapia, quimioterapia, tratamiento hormonal o tratamiento tradicional dirigido en las 2 semanas previas al día 1 del ciclo 1, toxicidad clínicamente significativa (distinta de alopecia) del tratamiento previo que no se ha resuelto en grado ≤ 2 (por NCI CTCAE v4.0) previo al día 1 del ciclo 1, neuropatía periférica de grado > 1 actual • linfoma del SNC o infiltración leptomeníngea, tratamiento con corticoesteroides sistémicos > 20 mg/día de prednisona o equivalente, debe estar documentado que los pacientes que reciben corticoesteroides ≤ 20 mg/día de prednisona o equivalente están en una dosis estable durante al menos 4 semanas previas al día 1 del ciclo 1. Si se requiere con urgencia tratamiento con corticoesteroides para el control de síntomas de linfoma antes del inicio del tratamiento del estudio, se pueden administrar hasta 100 mg/día de prednisona o equivalente durante un máximo de 5 días, pero todas las evaluaciones tumorales se deben completar antes del inicio del tratamiento con corticoesteroides. Antecedente de reacción alérgica o anafiláctica grave a anticuerpos monoclonales humanizados o murinos sensibilidad o alergia conocida a productos murinos o cualquier componente de las formulaciones de obinutuzumab, polatuzumab vedotin

o venetoclax, infección bacteriana, vírica, fúngica u otra infección activa, se debe tener precaución al considerar el uso de obinutuzumab en pacientes con antecedentes de infecciones recidivantes o crónicas, requerimiento de tratamiento con warfarina (debido a posibles interacciones farmacológicas que pueden incrementar la exposición a warfarina), tratamiento con los siguientes agentes dentro de los 7 días previos a la primera dosis de venetoclax: - inhibidores de CYP3A potentes tales como fluconazol, ketoconazol y claritromicina e - inductores de CYP3A potentes tales como rifampicina y carbamacepina, consumo de pomelo, productos con pomelo, naranjas amargas (incluyendo la mermelada que contiene naranjas amargas) o carambola en los 3 días previos a la primera dosis de venetoclax, antecedentes clínicamente significativos de hepatopatía, incluyendo hepatitis vírica u otra, alcoholismo o cirrosis actual, positivo para antígeno de superficie de la hepatitis B, anticuerpo central de la hepatitis B total o anticuerpo del virus de la hepatitis C en el cribado, antecedentes conocidos de estado positivo para VIH, para pacientes con estado de VIH desconocido, se realizarán pruebas de VIH en el cribado si se requiere por normativas locales, antecedentes de leucoencefalopatía multifocal progresiva, vacunación con una vacuna de virus vivos en los 128 días previos al día 1 del ciclo 1, antecedentes de otra neoplasia maligna que pueda afectar al cumplimiento del protocolo o a la interpretación de resultados, con la excepción de lo siguiente: - carcinoma tratado de forma curativa *in situ* del cuello uterino, carcinoma ductal de buen pronóstico *in situ* de la mama, cáncer de piel de células basales o escamosas, melanoma en fase I o cáncer de próstata localizado de fase precoz de bajo grado - cualquier neoplasia maligna tratada previamente que ha estado en remisión sin tratamiento durante ≥ 2 años antes de la inclusión, pruebas de cualquier enfermedad concomitante significativa no controlada que pueda afectar al cumplimiento del protocolo o a la interpretación de resultados, incluyendo cardiopatía significativa (tal como cardiopatía de clase III o IV según la Asociación Cardiológica de Nueva York, infarto de miocardio en los 6 meses previos, arritmia inestable o angina inestable) o neumopatía significativa (tal como neumopatía obstructiva o antecedentes de broncoespasmo), procedimiento quirúrgico mayor distinto de diagnóstico en los 28 días previos al día 1 del ciclo 1, o previsión de un procedimiento quirúrgico mayor durante el curso del estudio, función hematológica inadecuada (a menos que se deba a un linfoma subyacente), definido como sigue: - hemoglobina <9 g/dl, - ANC $<1,5 \times 10^9/l$, y - recuento plaquetario $<75 \times 10^9/l$.

Ejemplo 8- inmunconjugado anti-CD79b en combinación con lenalidomida

Este estudio evaluará la seguridad, eficacia y farmacocinética del tratamiento de inducción que consiste en obinutuzumab (GA101 o G) en combinación con polatuzumab vedotin (ADC anti-CD79b(huMA79b.v23)-MC-vc-PAB-MMAE (DCDS4501A) o pola) y lenalidomida (Len) (G + Pola + Len) en pacientes con linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL) o linfoma folicular (FL) recidivante o resistente al tratamiento, seguido de tratamiento posterior a la inducción con obinutuzumab en combinación con lenalidomida en pacientes con FL que logran una respuesta completa (RC), respuesta parcial (RP) o enfermedad estable al final de la inducción (EOI) y en pacientes con DLBCL que logran una RC o RP en EOI. Los objetivos específicos y los criterios de valoración correspondientes para el estudio se explican a continuación.

La respuesta se determinará en base a tomografías por emisión de positrones (PET) y tomografías computarizadas (TAC) o TAC solas, usando los Criterios de respuesta de Lugano revisados para linfoma maligno, a continuación en el presente documento denominados criterios de Lugano 2014. La respuesta se determinará por un Comité de Revisión Independiente (IRC) y por el investigador.

Objetivo de eficacia primario: El objetivo de eficacia primario para este estudio es evaluar la eficacia del tratamiento de inducción con G + Pola + Len en base al siguiente criterio de valoración: RC en EOI, como se determina por el IRC en base a PET-TAC.

Objetivos de eficacia secundarios: El objetivo de eficacia secundario para este estudio es evaluar la eficacia del tratamiento de inducción con G + Pola + Len en base a los siguientes criterios de valoración: RC en EOI, como se determina por el investigador en base a PET-TAC, RC en EOI, como se determina por el investigador en base a TAC solas, respuesta objetiva (definida como RC o RP) en EOI, como se determina por el IRC y por el investigador en base a PET-TAC, respuesta objetiva (definida como RC o RP) en EOI, como se determina por el IRC y el investigador en base a TAC solas, mejor respuesta de RC o RP durante el estudio, como se determina por el investigador en base a TAC solas.

Objetivo de eficacia explorador: El objetivo de eficacia explorador para este estudio es evaluar la eficacia a largo plazo de G + Pola + Len en base a los siguientes criterios de valoración: para pacientes que tienen PET positivas en EOI: RC a los 12 meses, como se determina por el IRC y por el investigador en base a PET-TAC, SSP, definida como el tiempo desde el inicio del tratamiento de estudio hasta la primera aparición de progresión o recidiva de enfermedad, como se determina por el investigador en base a TAC solas, o muerte por cualquier causa, SSS, definida como el tiempo desde el inicio del tratamiento de estudio hasta cualquier fracaso terapéutico, incluyendo la progresión o recidiva de enfermedad, como se determina por el investigador en base a TAC solas, inicio de nuevo tratamiento contra el linfoma, o muerte por cualquier causa, lo que se produzca primero, supervivencia sin enfermedad, definida, entre pacientes que logran una RC, como el tiempo desde la primera aparición de una RC documentada hasta una recidiva, como se determina por el investigador en base a TAC solas, o muerte por cualquier causa, lo que se produzca primero, y supervivencia global, definida como el tiempo desde el inicio del tratamiento de estudio hasta la muerte por cualquier causa.

Criterios de inclusión: Los pacientes deben cumplir con los siguientes criterios para entrar en el estudio: declaración de consentimiento informado firmado, edad ≥ 18 años, estado funcional del Grupo Oncológico Cooperativo de la Costa Este de 0, 1 o 2. Para pacientes incluidos en la fase de aumento de dosis: FL recidivante o resistente al tratamiento después del tratamiento con al menos un régimen de quimioinmunoterapia previo que incluyó un anticuerpo monoclonal anti-CD20 y para el que no existe otra opción de tratamiento más apropiada como se determina por el investigador. Para pacientes incluidos en la fase de ampliación: linfoma clasificado como cualquiera de los siguientes: FL recidivante o resistente al tratamiento después del tratamiento con al menos un régimen de quimioinmunoterapia previo que incluyó un anticuerpo monoclonal anti-CD20 y para el que no existe otra opción de tratamiento más apropiada como se determina por el investigador, DLBCL recidiva o resistente al tratamiento después del tratamiento con al menos un régimen de quimioinmunoterapia previo en pacientes que no son aptos para el autotrasplante de células madre o que han experimentado progresión de la enfermedad después del tratamiento con dosis altas de quimioterapia más autotrasplante de células madre, linfoma de linfocitos B positivo para CD20 histológicamente documentado como se determina por el laboratorio local, linfoma con avidez por fluorodesoxiglucosa (es decir, linfoma positivo para PET), al menos una lesión medible bidimensionalmente ($> 1,5$ cm en su dimensión más grande por TAC o resonancia magnética nuclear), disponibilidad de una muestra tumoral representativa y el informe de patología correspondiente para la confirmación central retrospectiva del diagnóstico de FL o DLBCL. Si el tejido de archivo no está disponible o es inaceptable, se requiere una biopsia tumoral por incisión o escisión por punción con aguja gruesa previa al tratamiento. Las muestras citológicas o con aguja fina no son aceptables.

Criterios de exclusión: los pacientes que cumplen cualquiera de los siguientes criterios se excluirán de la entrada en el estudio: estado negativo para CD20 conocido en recidiva o progresión, linfoma del sistema nervioso central o infiltración leptomeningea, alotrasplante de células madre (SCT) previo, finalización de SCT autólogo en los 100 días previos al día 1 del ciclo 1, antecedentes de resistencia a lenalidomida o duración de respuesta de < 1 año (para pacientes que respondieron a un régimen que contenía lenalidomida previo), tratamiento antineoplásico estándar o de investigación previo como se especifica: lenalidomida, fludarabina o alemtuzumab en los 12 meses previos al día 1 del ciclo 1, radioinmunoconjugado en las 12 semanas previas al día 1 del ciclo 1, tratamiento con conjugado fármaco-anticuerpo o anticuerpo monoclonal en las 4 semanas previas al día 1 del ciclo 1, radioterapia, quimioterapia, tratamiento hormonal o tratamiento tradicional dirigido en las 2 semanas previas al día 1 del ciclo 1, toxicidad clínicamente significativa (distinta de alopecia) del tratamiento previo que no se ha resuelto en grado ≤ 2 (por NCI CTCAE, versión 4.0) previo al día 1 del ciclo 1, tratamiento con medicamentos inmunosupresores sistémicos, incluyendo, pero sin limitarse a, prednisona, azatioprina, metotrexato, talidomida y agentes anti-factor de necrosis tumoral en las 2 semanas previas al día 1 del ciclo 1. Se permite el tratamiento con mineralocorticoides y corticoesteroides inhalados, si el tratamiento con corticoesteroides se requiere con urgencia para el control de síntomas de linfoma antes del inicio del tratamiento del estudio, se pueden administrar hasta 100 mg/día de prednisona o equivalente durante un máximo de 5 días, pero todas las evaluaciones tumorales se deben completar antes del inicio del tratamiento con corticoesteroides, antecedentes de reacción alérgica o anafiláctica grave a anticuerpos monoclonales humanizados o murinos, sensibilidad o alergia conocida a productos murinos o cualquier componente de formulaciones de obinutuzumab, polatuzumab vedotin o lenalidomida, antecedentes de eritema multiforme, exantema de grado ≥ 3 , o descamación (ampollas) después del tratamiento previo con derivados inmunomoduladores tales como talidomida y lenalidomida, infección bacteriana, vírica, fúngica u otra infección activa, se debe tener precaución al considerar el uso de obinutuzumab en pacientes con antecedentes de infecciones recidivantes o crónicas, positivos para antígeno de superficie de la hepatitis B, anticuerpo central de la hepatitis B total o anticuerpo del virus de la hepatitis C en el cribado, antecedentes conocidos del estado positivo para VIH, antecedentes de leucoencefalopatía multifocal progresiva, vacunación con una vacuna de virus vivos en los 28 días previos al día 1 del ciclo 1, antecedentes de otra neoplasia maligna que pueda afectar al cumplimiento del protocolo o a la interpretación de resultados, con la excepción de lo siguiente: carcinoma tratado de forma curativa *in situ* del cuello uterino; carcinoma ductal de buen pronóstico *in situ* de la mama; cáncer de piel de células basales o escamosas; melanoma en fase I; o cáncer de próstata localizado en fase precoz de bajo grado, cualquier neoplasia maligna tratada previamente que ha estado en remisión sin tratamiento durante ≥ 2 años antes de la inclusión, contraindicación para el tratamiento de profilaxis con TE, neuropatía de grado ≥ 2 , pruebas de cualquier enfermedad concomitante significativa no controlada que pueda afectar al cumplimiento del protocolo o a la interpretación de los resultados, incluyendo una cardiovascular significativa (tal como cardiopatía de clase III o IV según la Asociación Cardiológica de Nueva York, infarto de miocardio en los 6 meses previos, arritmia inestable o angina inestable) o neumopatía significativa (tal como neumopatía obstructiva o antecedentes de broncoespasmo), procedimiento quirúrgico mayor distinto de diagnóstico en los 28 días previos al día 1 del ciclo 1 o previsión de un procedimiento quirúrgico mayor durante el curso del estudio, función hematológica inadecuada (a menos que se deba a un linfoma subyacente), definido como sigue: hemoglobina < 9 g/dl, ANC $< 1,5 \times 10^9/l$, recuento plaquetario $< 75 \times 10^9/l$, cualquiera de los siguientes valores de laboratorio anómalos (a menos que se deba a un linfoma subyacente): aclaramiento de creatinina calculado < 60 ml/min (usando la fórmula de Cockcroft-Gault), AST o ALT $> 2,5 \times$ límite superior de la normalidad (LSN), bilirrubina total en suero $> 1,5 \times$ LSN (o $> 3 \times$ LSN para pacientes con síndrome de Gilbert), INR o PT $> 1,5 \times$ LSN en ausencia de anticoagulación terapéutica, o PTT o aPTT $> 1,5 \times$ LSN en ausencia de un anticoagulante lúpico.

Obinutuzumab: Inducción: los pacientes recibirán 1000 mg de obinutuzumab por vía intravenosa los días 1, 8 y 15 del ciclo 1 y el día 1 de cada ciclo posterior de 28 días durante hasta 6 ciclos. Después de la inducción: para el tratamiento de consolidación, los pacientes con DLBCL recibirán 1000 mg de obinutuzumab por vía intravenosa el día 1 de cada

dos meses durante aproximadamente 6 meses de tratamiento adicional. Para el tratamiento de mantenimiento, los pacientes con FL recibirán 1000 mg de obinutuzumab por vía intravenosa el día 1 de cada dos meses durante aproximadamente 24 meses de tratamiento adicional.

- 5 **Polatuzumab vedotin:** Inducción: los pacientes recibirán 1,4 o 1,8 mg/kg de polatuzumab vedotin por vía intravenosa el día 1 de cada ciclo de 28 días durante hasta 6 ciclos. • En la parte de la fase Ib del estudio, la dosis total de polatuzumab vedotin para cada paciente dependerá de la asignación del nivel de dosis y del peso del paciente el día 1 del ciclo 1 (o en las 96 horas antes del día 1 del ciclo 1). En la parte de fase II del estudio, la dosis total de polatuzumab vedotin para cada paciente dependerá de la RP2D establecida en la parte de fase Ib y del peso del paciente el día 1 del ciclo 1 (o en las 96 horas antes del día 1 del ciclo 1). Después de la inducción: no se administrará polatuzumab vedotin.

- 15 **Lenalidomida:** Inducción: los pacientes recibirán 10, 15 o 20 mg de lenalidomida por vía oral una vez al día los días 1-21 de cada ciclo de 28 días durante hasta 6 ciclos. En la parte de la fase Ib del estudio, la dosis de lenalidomida para cada paciente dependerá de la asignación del nivel de dosis el día 1 del ciclo 1. En la parte de fase II del estudio, la dosis de lenalidomida para cada paciente dependerá de la RP2D establecida en la parte de fase Ib del estudio. Después de la inducción: los pacientes recibirán 10 mg de lenalidomida por vía oral una vez al día los días 1-21 de cada mes. Para el tratamiento de consolidación, los pacientes con DLBCL recibirán 10 mg de lenalidomida por vía oral una vez al día los días 1-21 de cada mes (comenzando el mes 1 y continuando hasta el mes 6) durante aproximadamente 6 meses de tratamiento adicional. Para el tratamiento de mantenimiento, los pacientes con FL recibirán 10 mg de lenalidomida por vía oral una vez al día los días 1-21 de cada mes (comenzando el mes 1 y continuando hasta el mes 12) durante aproximadamente 12 meses de tratamiento adicional.

- 25 Aunque la invención anterior se ha descrito con cierto 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 acc. NP_000617.1; secuencia señal = aminoácidos de 1 a 28	RFIARKRGFT VKMHCYMNSA SGNVSWLWKQ EMDENPQQLK LEKGRMEESQ NESLATLTIQ GIRFEDNGIY FCQQKCNNTS EYVQCGGTEL RVMGFSTLAQ LKQRNTLKDG IIMIQTLLII LFIIVPIFLL LDKDDSKAGM EEDHTYEGLD IDQTATYEDI VTLRTGEVKW SVGEHPGQE	1
CD79b madura humana, sin secuencia señal; aminoácidos de 29 a 229	AR SEDRYRNPKG SACSRIWQSP RFIARKRGFT VKMHCYMNSA SGNVSWLWKQ EMDENPQQLK LEKGRMEESQ NESLATLTIQ GIRFEDNGIY FCQQKCNNTS EYVQCGGTEL RVMGFSTLAQ LKQRNTLKDG IIMIQTLLII LFIIVPIFLL LDKDDSKAGM EEDHTYEGLD IDQTATYEDI VTLRTGEVKW SVGEHPGQE	2
VH de anticuerpo anti-CD20 mAb B-Ly1	Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Tyr Ser Trp Met Asn Trp Val Lys Leu Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr Met Gln Leu Thr Ser Leu Thr Ser Val Asp Ser Ala Val Tyr Leu Cys Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala	3

NOMBRE	SECUENCIA	SEQ ID NO
VL de anticuerpo anti-CD20 mMAb B-Ly1	Asn Pro Val Thr Leu Gly Thr Ser Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Val Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Ser Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Arg Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Asn Leu Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg	4
GA101 HVR-H1	Gly Tyr Ala Phe Ser Tyr	5
GA101 HVR-H2	Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp	6
GA101 HVR-H3	Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr	7
GA101 HVR-L1	Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr	8
GA101 HVR-L2	Gln Met Ser Asn Leu Val Ser	9
GA101 HVR-L3	Ala Gln Asn Leu Glu Leu Pro Tyr Thr	10
VH GA101	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Tyr Ser Trp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	11
VL GA101	Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Val Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Asn Leu Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val	12

NOMBRE	SECUENCIA	SEQ ID NO
Cadena pesada GA101	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Tyr Ser Trp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly	13
Cadena ligera GA101	Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Val Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Asn Leu Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys	14

NOMBRE	SECUENCIA	SEQ ID NO
VH de anticuerpo B-Ly1 humanizado (B-HH2)	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Tyr Ser Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	15
VH de anticuerpo B-Ly1 humanizado (B-HH3)	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Tyr Ser Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	16
Cadena pesada B-Ly1 humanizado	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYAFS YSWINWVRQA PGQGLEWMGR IFPGDGDYD NGKFKGRVTI TADKSTSTAY MELSSLRSSE TAVYYCARNV FDGYWLVYWG QGTLVTVSSA STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TTPAVLQSSG LYSLSVVTV PSSSLGTQTY ICNVNHKPSN TKVDKKVEPK SCDKTHTCPP CPAPELLGGP SVFLFPPKPK DTLNISRTPE VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQYNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSRDEL TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTTPVL DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSPG	17
Cadena ligera B-Ly1 humanizado	DIVMTQTPLS LPVTPGEPAS ISCRSSKSLI HSNGITLYLW YLQKPGQSPQ LLIYQMSNLV SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCAQNLELP YTFGGGTKVE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPRKAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNREGC	18
Región variable de la cadena pesada de huMA79bv28	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFS SYWIEWVRQA PGKGLEWIGE ILPGGGDTNY NEIFKGRATF SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCTRRV PIRLDYWGQG TLVTVSS	19
Región variable de la cadena ligera de huMA79bv28	DIQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQSVD YEGDSFLNWF QQKPGKAPKL LIYAASNLES GVPSRFSGSG SGTDFTLTIS SLQPEDFATY YCQQSNEDPL TFGQGTKVEI KR	20
HVR H1 huMA79bv28	GYTFSSYWIE	21
HVR H2 huMA79bv28	GEILPGGGDTNYNEIFKG	22
HVR H3 huMA79bv28	TRRVPIRLDY	23

NOMBRE	SECUENCIA	SEQ ID NO
HVR L1 huMA79bv28	KASQSVDYEGDSFLN	24
HVR L2 huMA79bv28	AASNLES	25
HVR L3 huMA79bv28	QQSNEDPLT	26
región estructural (FR) 1 de la cadena pesada (HC) de huMA79bv28	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	27
FR2 HC huMA79bv28	WVRQAPGKGLEWI	28
FR3 HC huMA79bv28	RATFSADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYC	29
FR4 HC huMA79bv28	WGQGTLVTVSS	30
FR1 de la cadena ligera (LC) de huMA79bv28	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITC	31
FR2 LC huMA79bv28	WYQQKPGKAPKLLIY	32
FR3 LC huMA79bv28	GVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYC	33
FR4 LC huMA79bv28	FGQGTKVEIKR	34
cadena ligera (Igκ) huMA79bv28	DIQLTQSPSS LSASVGDRTV ITCKASQSD YEGDSFLNWI QQKPGKAPKL LIYAASNLES GVPSRFSGSG SGTDFLTITIS SLQPEDFATY YCQQSNEDPL TFGQGTKVEI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLISKADY EKHKVYACEV THQGLSSPVT KSFNRGEC	35
cadena pesada (IgG1) huMA79bv28	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFS SYWIEWVRQA PGKGLEWIGE ILPGGGDTNY NEIFKGRATF SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCTRRV PIRLDYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVTVPS SSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC DKHTCPCPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTPPVLDLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVME ALHNHYTQKS LSLSPG	36
Cadena pesada (IgG1) genomanipulada con cisteína A118C huMA79bv28	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFS SYWIEWVRQA PGKGLEWIGE ILPGGGDTNY NEIFKGRATF SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCTRRV PIRLDYWGQG TLVTVSSCST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVTVPS SSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC DKHTCPCPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTPPVLDLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVME ALHNHYTQKS LSLSPG	37

NOMBRE	SECUENCIA	SEQ ID NO
Cadena ligera (Igκ) genomanipulada con cisteína V205C huMA79bv28	DIQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQSV D YEGDSFLN WY QQKPGKAPKL LIYAASNLES GVPSRFS GSG SGTDFTLTIS SLQPEDFATY YCQOSNEDPL TFGQGTKVEI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLKADY EKHKVYACEV THQGLSSPCT KSFNRGEC	38
Cadena pesada (IgG1) genomanipulada con cisteína S400C huMA79bv28	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFS SYWIEWVRQA PGKGLEWIGE ILPGGGDTNY NEIFKGRATF SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCTRRV PIRLDYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVTVPS SSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC DKHTCPCPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPFSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDL DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NWFSCSV MHE ALHNHYTQKS LSLSPGK	39
VH de anticuerpo B-Ly1 humanizado (B-HH4)	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Tyr Ser Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	40
VH de anticuerpo B-Ly1 humanizado (B-HH5)	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Tyr Ser Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	41
VH de anticuerpo B-Ly1 humanizado (B-HH6)	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Tyr Ser Trp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	42

NOMBRE	SECUENCIA	SEQ ID NO
VH de anticuerpo B-Ly1 humanizado (B-HH7)	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Tyr Ser Trp Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	43
VH de anticuerpo B-Ly1 humanizado (B-HH8)	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Tyr Ser Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	44
VH de anticuerpo B-Ly1 humanizado (B-HH9)	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Tyr Ser Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	45
VH de anticuerpo B-Ly1 humanizado (B-HL8)	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Ser Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	46
VH de anticuerpo B-Ly1 humanizado (B-HL10)	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Ser Tyr Ser Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	47

NOMBRE	SECUENCIA	SEQ ID NO
VH de anticuerpo B-Ly1 humanizado (B-HL11)	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Ser Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	48
VH de anticuerpo B-Ly1 humanizado (B-HL12)	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Ala Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Ser Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	49
VH de anticuerpo B-Ly1 humanizado (B-HL13)	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Lys Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Ser Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	50
VH de anticuerpo B-Ly1 humanizado (B-HL14)	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Lys Lys Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Ser Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	51
VH de anticuerpo B-Ly1 humanizado (B-HL15)	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Ser Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Ser Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	52

NOMBRE	SECUENCIA	SEQ ID NO
VH de anticuerpo B-Ly1 humanizado (B-HL16)	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly Ser Leu Arg Val Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Ser Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	53
VH de anticuerpo B-Ly1 humanizado (B-HL17)	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Ser Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	54
VL del anticuerpo humanizado B-Ly1 (B-KVI)	Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Val Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Asn Leu Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val	55

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> GENENTECH, INC.

<120> PROCEDIMIENTOS DE USO DE INMUNOCONJUGADOS ANTI-CD79B

<130> P32333-WO

5 <140>

<141>

<150> 62/136.324

<151> 20/03/2015

<150> 62/076.823

10 <151> 07/11/2014

<150> 62/054.257

<151> 23/09/2014

<160> 55

<170> PatentIn versión 3.5

15 <210> 1

<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

20

ES 2 796 903 T3

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly Gln Glu

<210> 2

<211> 201

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<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

ES 2 796 903 T3

Leu Trp Lys Gln Glu Met Asp Glu Asn Pro Gln Gln Leu Lys Leu Glu
 50 55 60
 Lys Gly Arg Met Glu Glu Ser Gln Asn Glu Ser Leu Ala Thr Leu Thr
 65 70 75 80
 Ile Gln Gly Ile Arg Phe Glu Asp Asn Gly Ile Tyr Phe Cys Gln Gln
 85 90 95
 Lys Cys Asn Asn Thr Ser Glu Val Tyr Gln Gly Cys Gly Thr Glu Leu
 100 105 110
 Arg Val Met Gly Phe Ser Thr Leu Ala Gln Leu Lys Gln Arg Asn Thr
 115 120 125
 Leu Lys Asp Gly Ile Ile Met Ile Gln Thr Leu Leu Ile Ile Leu Phe
 130 135 140
 Ile Ile Val Pro Ile Phe Leu Leu Leu Asp Lys Asp Asp Ser Lys Ala
 145 150 155 160
 Gly Met Glu Glu Asp His Thr Tyr Glu Gly Leu Asp Ile Asp Gln Thr
 165 170 175
 Ala Thr Tyr Glu Asp Ile Val Thr Leu Arg Thr Gly Glu Val Lys Trp
 180 185 190
 Ser Val Gly Glu His Pro Gly Gln Glu
 195 200

<210> 3

<211> 112

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

10 <400> 3

ES 2 796 903 T3

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

Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Tyr Ser Trp Met Asn Trp Val Lys Leu
20 25 30

Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp
35 40 45

Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr
50 55 60

Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr Met Gln Leu Thr Ser Leu Thr
65 70 75 80

Ser Val Asp Ser Ala Val Tyr Leu Cys Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly
85 90 95

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

<210> 4

<211> 103

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 4

10 Asn Pro Val Thr Leu Gly Thr Ser Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser
1 5 10 15

Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu
20 25 30

Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn
35 40 45

Leu Val Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Ser Ser Gly Ser Gly Thr
50 55 60

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

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

Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100

<210> 5

<211> 6

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 5

10 Gly Tyr Ala Phe Ser Tyr
1 5

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<221> fuente

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

<400> 6

Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp
1 5

20 <210> 7

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <221> fuente

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

<400> 7

Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr
1 5 10

<210> 8

30 <211> 16

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 8

Arg	Ser	Ser	Lys	Ser	Leu	Leu	His	Ser	Asn	Gly	Ile	Thr	Tyr	Leu	Tyr
1				5					10					15	

<210> 9

<211> 7

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

15 <400> 9

Gln	Met	Ser	Asn	Leu	Val	Ser
1				5		

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

20 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 10

Ala	Gln	Asn	Leu	Glu	Leu	Pro	Tyr	Thr
1				5				

25 <210> 11

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

30 <220>

<221> fuente

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

<400> 11

ES 2 796 903 T3

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

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

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

Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 12

<211> 115

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 12

ES 2 796 903 T3

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

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

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Val 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 Ala Gln Asn
85 90 95

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

Arg Thr Val
115

<210> 13

<211> 448

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

10 <400> 13

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

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

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

Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60

ES 2 796 903 T3

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

ES 2 796 903 T3

Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	165	170	175
Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	180	185	190
Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	195	200	205
Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	210	215	220
Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	225	230	235
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	245	250	255
Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	260	265	270
Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	275	280	285
Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	290	295	300
Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	305	310	315
																		320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 14

<211> 219

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

10 <400> 14

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

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

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Val 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 Ala Gln Asn
85 90 95

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

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 15

<211> 119

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

10 <400> 15

ES 2 796 903 T3

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

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

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

Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 16

<211> 119

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 16

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

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

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

Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 17

<211> 448

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 17

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

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

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

10 Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 18

<211> 219

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

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

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

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

ES 2 796 903 T3

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

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

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 19

<211> 117

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 19

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

10

Trp Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
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 Ala Thr Phe Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 20

<211> 112

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

10 <400> 20

Asp Ile Gln Leu 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 Glu
20 25 30

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

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

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile 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 Arg
100 105 110

<210> 21

<211> 10

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 21

10 Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr Trp Ile Glu
1 5 10

<210> 22

<211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<221> fuente

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

<400> 22

Gly Glu Ile Leu Pro Gly Gly Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Glu Ile Phe
1 5 10 15

Lys Gly

20 <210> 23

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <221> fuente

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

<400> 23

Thr Arg Arg Val Pro Ile Arg Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 24

30 <211> 15

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente

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

<400> 24
 Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Glu Gly Asp Ser Phe Leu Asn
 1 5 10 15

<210> 25
 <211> 7

10 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

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

15 <400> 25
 Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser
 1 5

<210> 26
 <211> 9
 <212> PRT

20 <213> Secuencia artificial

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

<400> 26
 Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Leu Thr
 1 5

25 <210> 27
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 27

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
20 25

<210> 28

<211> 13

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 28

10 Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
1 5 10

<210> 29

<211> 30

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<221> fuente

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

<400> 29

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

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

20 <210> 30

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <221> fuente

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

<400> 30

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 31
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

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

<400> 31
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 20

10 <210> 32
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 15 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 32
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 1 5 10 15

20 <210> 33
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

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

<400> 33
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 34
 <211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 34

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
1 5 10

<210> 35

<211> 218

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

15 <400> 35

Asp Ile Gln Leu 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 Glu
20 25 30

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

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

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

ES 2 796 903 T3

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 Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 36

<211> 446

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 36

ES 2 796 903 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	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr		20	25	30	
Trp	Ile	Glu	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile		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	Ala	Thr	Phe	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	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu		115	120	125	
Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys		130	135	140	
Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser		145	150	155	160
Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser		165	170	175	
Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser		180	185	190	

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

305		310		315		320									
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile
				325					330					335	
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro
			340					345					350		
Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu
		355					360					365			
Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn
	370					375					380				
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser
385					390					395					400
Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg
			405						410					415	
Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu
			420					425					430		
His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly		
	435						440					445			

<210> 37

<211> 446

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 37

ES 2 796 903 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	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr		
			20					25					30				
Trp	Ile	Glu	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile		
		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	Ala	Thr	Phe	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	Cys	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu		
		115					120					125					
Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys		
	130					135					140						
Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser		
145					150					155					160		
Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser		
				165					170					175			
Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser		
			180					185					190				

Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	
		195					200					205				
Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	
	210					215					220					
Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	
225					230					235					240	
Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	
				245					250					255		
Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	
		260						265					270			
Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	
	275						280					285				
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	
	290					295					300					
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	
305					310					315					320	

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 38

<211> 218

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 38

ES 2 796 903 T3

Asp Ile Gln Leu 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 Glu
20 25 30

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

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

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile 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 Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205

Cys Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 39

5 <211> 447

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 39

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 Ile
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 Ala Thr Phe 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 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

ES 2 796 903 T3

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Cys
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 40

<211> 119

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 40

Gln 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 Val Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Tyr Ser
20 25 30

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

Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 41
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

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

<400> 41
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Tyr Ser
 20 25 30
 Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

10 <210> 42
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>

15 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 42

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

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

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

Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 43

<211> 119

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

10 <400> 43

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

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

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

Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 44

<211> 119

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

10 <400> 44

Gln 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 Tyr Ser
20 25 30

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

Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 45
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

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

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

10 <210> 46
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>

15 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 46

ES 2 796 903 T3

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

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

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

Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 47

<211> 119

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

10 <400> 47

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

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

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

Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 48

<211> 119

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 48

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

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

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

Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60

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

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

10

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 49

<211> 119

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 49

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

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

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

Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 50

<211> 119

<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 50

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

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

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

Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

5 <210> 51

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <221> fuente

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

<400> 51

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

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

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

Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
 50 55 60

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 52

<211> 119

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 52

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

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

10

ES 2 796 903 T3

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

Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 53

<211> 119

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 53

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

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

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

Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60

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

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

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

10

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 54

<211> 119

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 54

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

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

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

Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

10

<210> 55

<211> 115

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

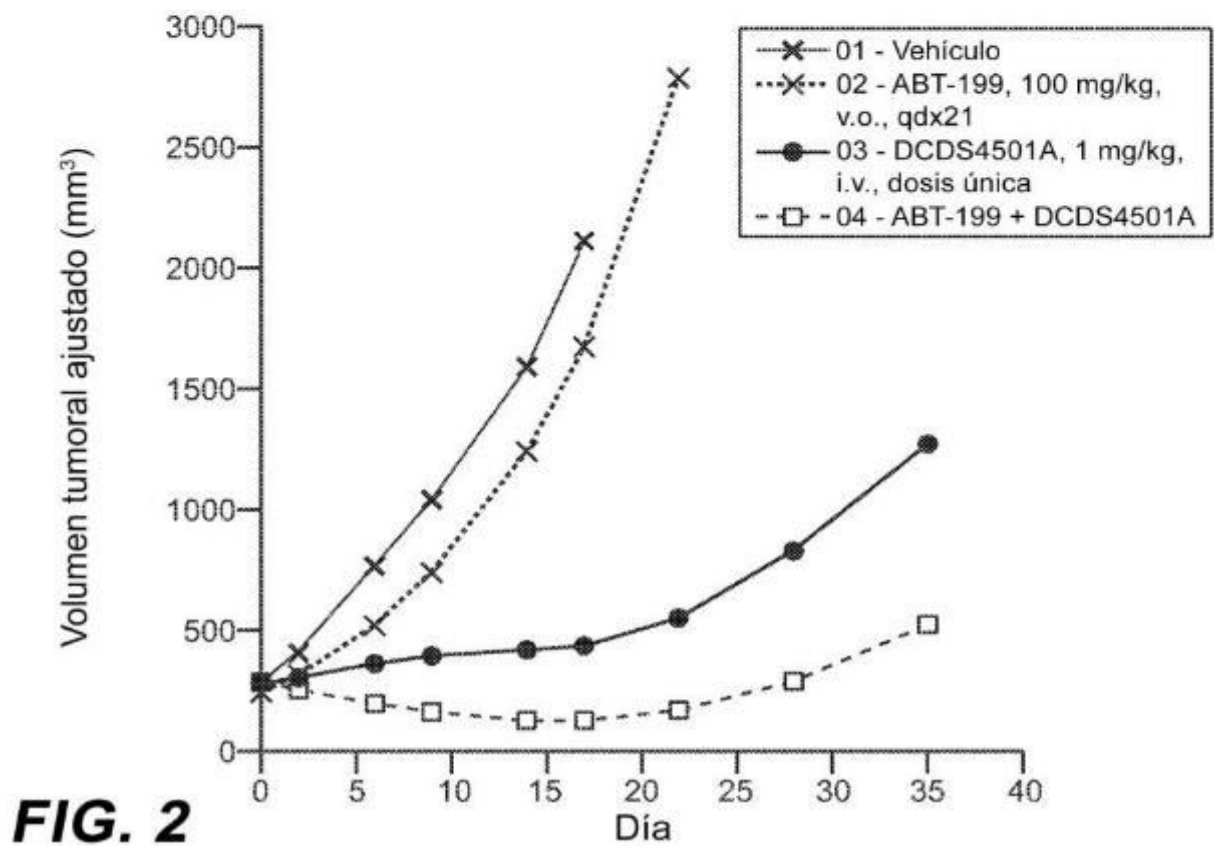
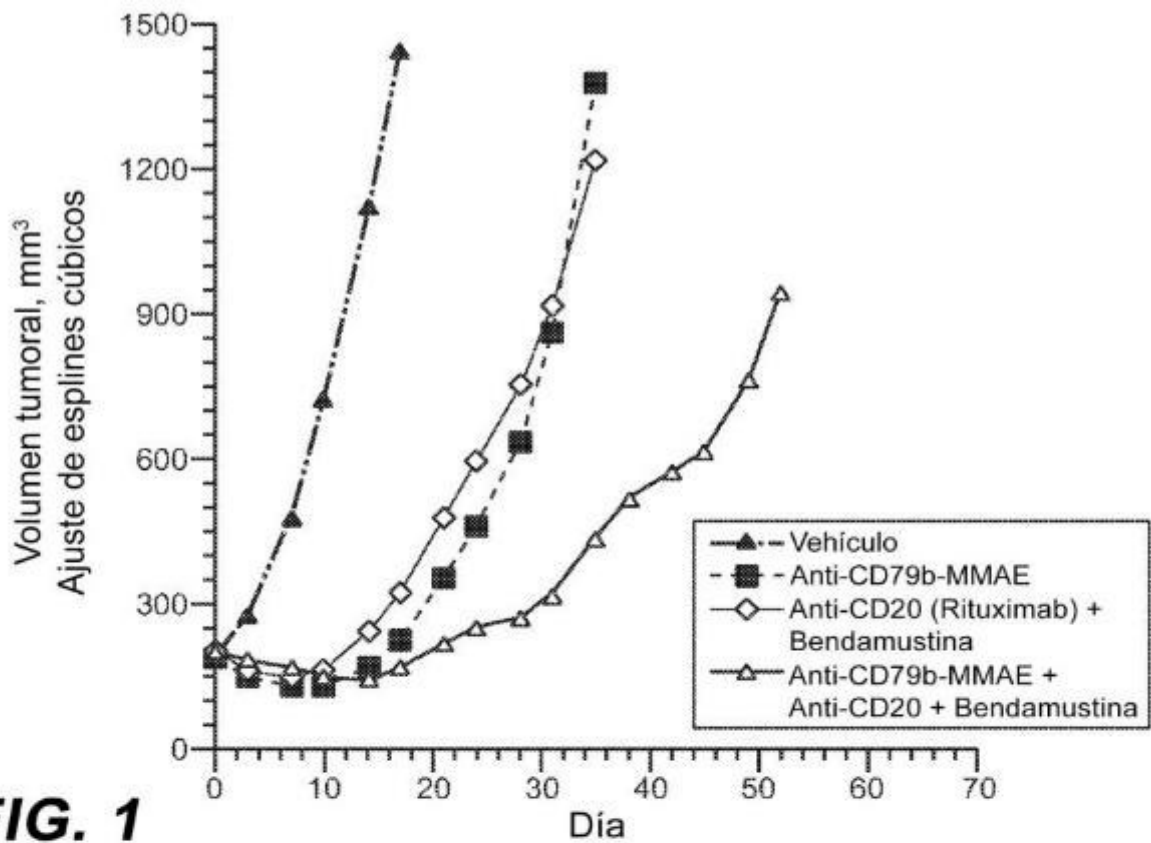
15

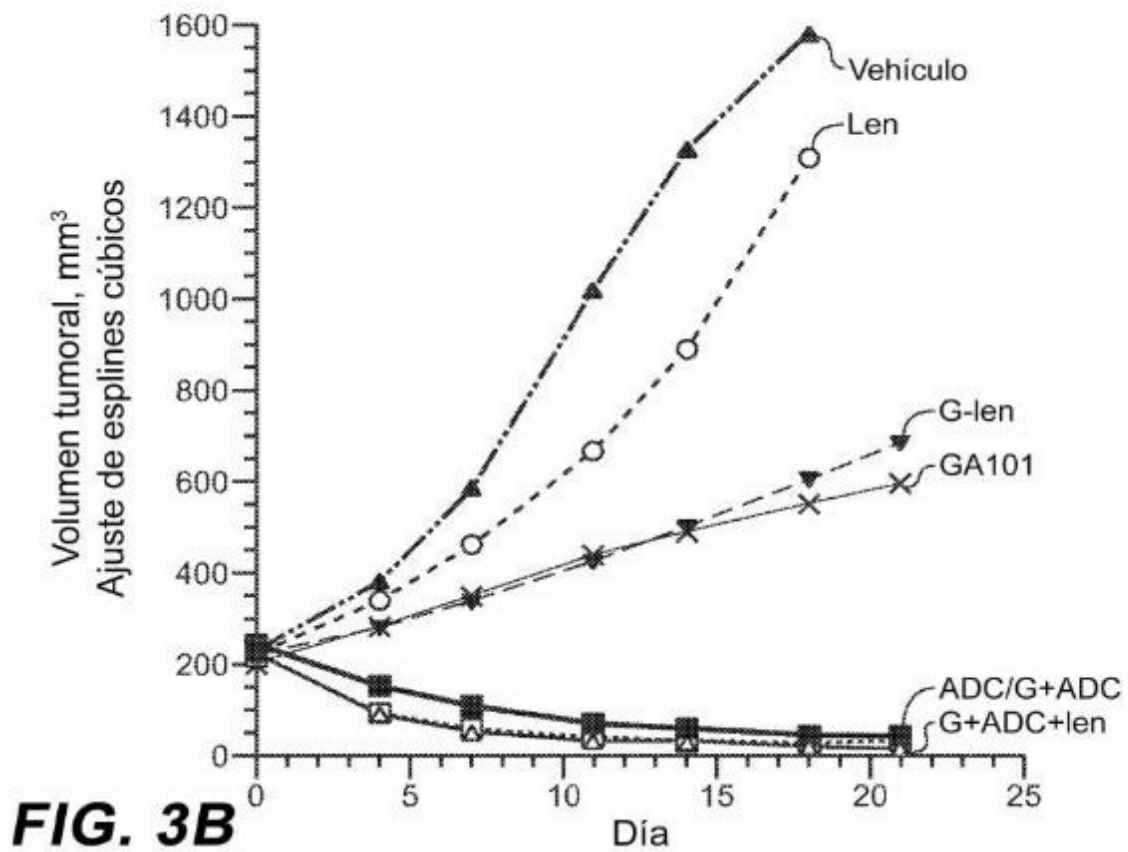
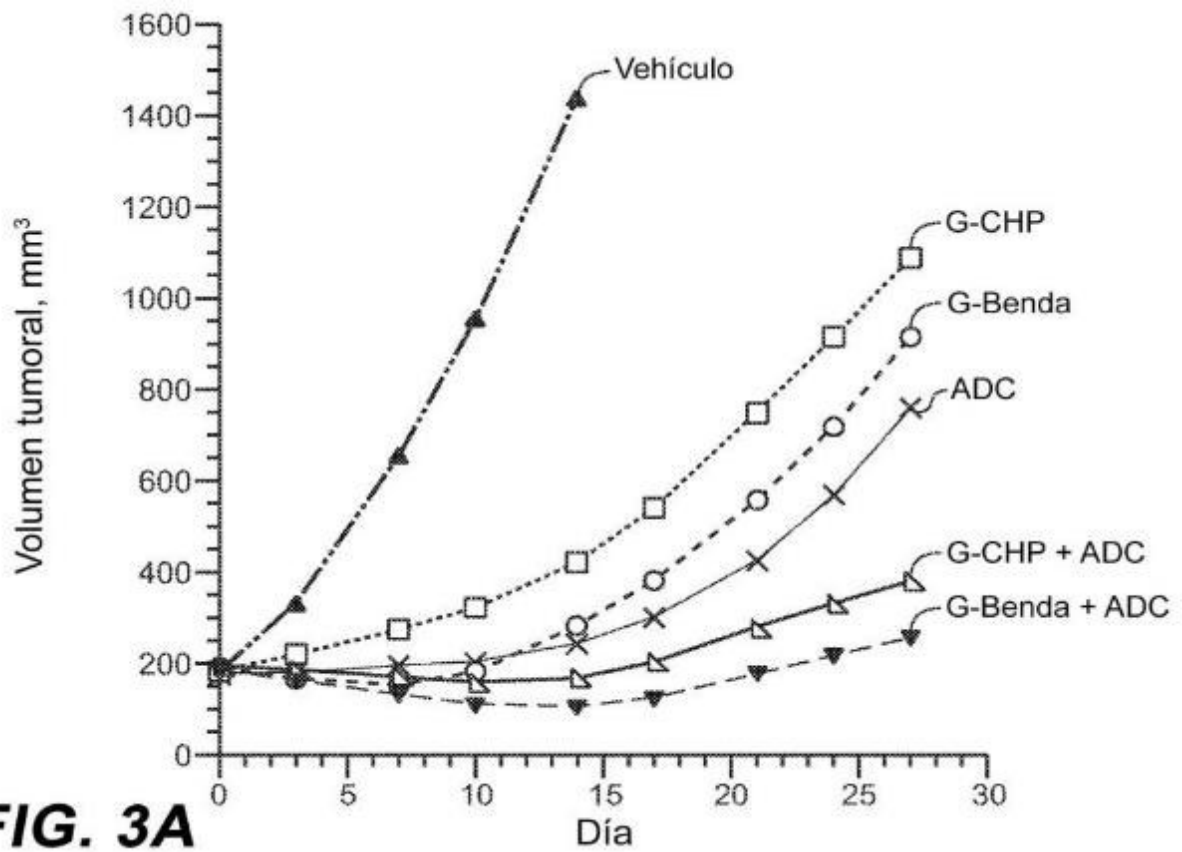
<400> 55

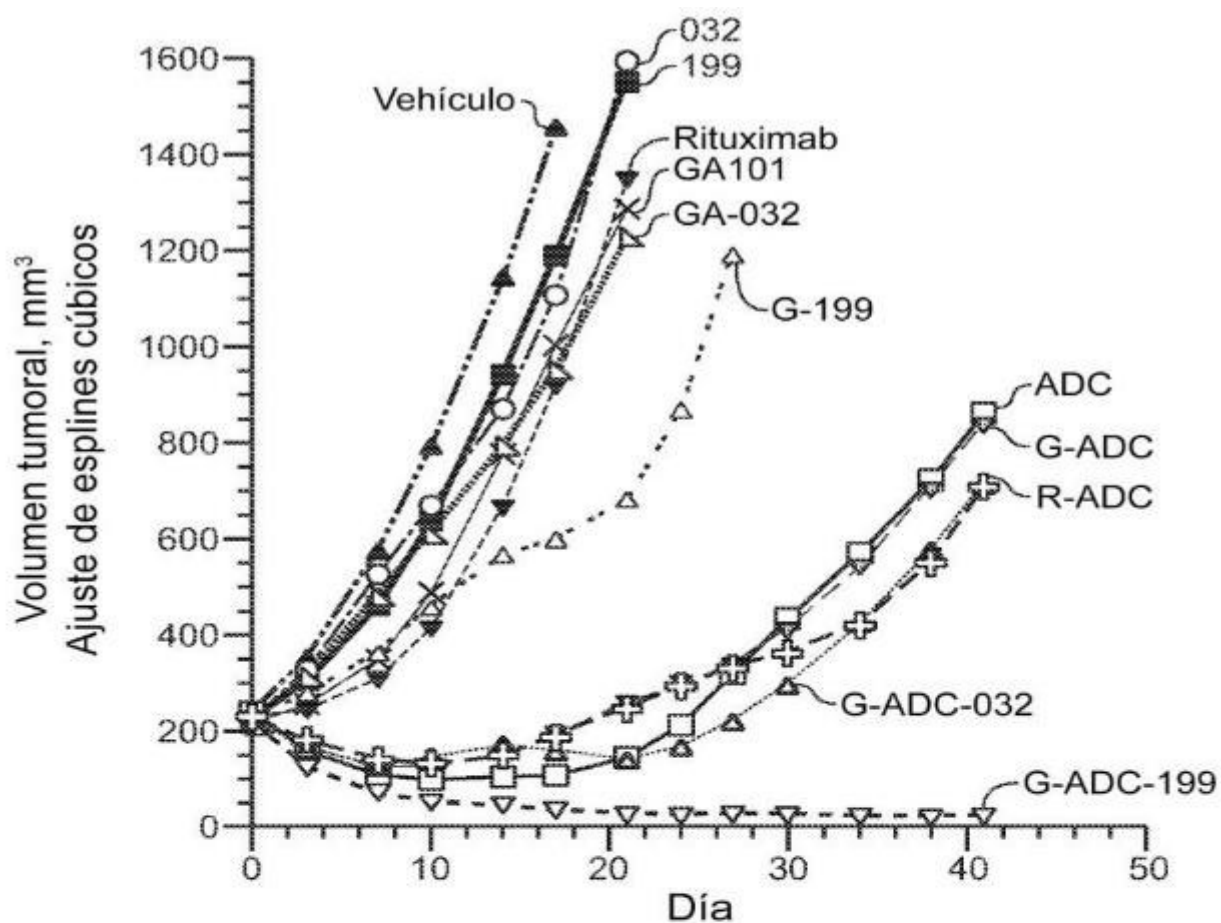
Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Thr	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	Thr	Pro	Gly	1	5	10	15
Glu	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Lys	Ser	Leu	Leu	His	Ser	20	25	30	
Asn	Gly	Ile	Thr	Tyr	Leu	Tyr	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser	35	40	45	
Pro	Gln	Leu	Leu	Ile	Tyr	Gln	Met	Ser	Asn	Leu	Val	Ser	Gly	Val	Pro	50	55	60	
Asp	Arg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

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un inmunoconjugado que comprende un anticuerpo anti-CD79b unido a un agente citotóxico para su uso en un procedimiento para tratar un trastorno proliferativo de linfocitos B en un individuo, en el que el inmunoconjugado es polatuzumab vedotin y el procedimiento comprende administrar el inmunoconjugado al individuo en combinación con (a) un anticuerpo anti-CD20 que es rituximab u obinutuzumab y (b) un agente alquilante que es bendamustina.
- 10 2. El inmunoconjugado para su uso en un procedimiento de tratamiento de la reivindicación 1, en el que el anticuerpo anti-CD20 es rituximab.
3. El inmunoconjugado para su uso en un procedimiento de tratamiento de la reivindicación 1, en el que el anticuerpo anti-CD20 es obinutuzumab.
- 15 4. El inmunoconjugado para su uso en un procedimiento de tratamiento de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que la combinación comprende polatuzumab vedotin, rituximab y bendamustina.
5. El inmunoconjugado para su uso en un procedimiento de tratamiento de la reivindicación 1 o la reivindicación 3, en el que la combinación comprende polatuzumab vedotin, obinutuzumab y bendamustina.
- 20 6. El inmunoconjugado para su uso en un procedimiento de tratamiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el trastorno proliferativo de linfocitos B es cáncer.
- 25 7. El inmunoconjugado para su uso en un procedimiento de tratamiento de la reivindicación 6, en el que el trastorno proliferativo de linfocitos B es linfoma, linfoma no hodgkiniano (LNH), LNH de gran malignidad, LNH de gran malignidad recidivante, LNH de escasa malignidad recidivante, LNH resistente al tratamiento, LNH de escasa malignidad resistente al tratamiento, leucemia linfocítica crónica (LLC), linfoma linfocítico de células pequeñas, leucemia, tricoleucemia (TL), leucemia linfocítica aguda (LLA) o linfoma de células del manto.
- 30 8. El inmunoconjugado para su uso en un procedimiento de tratamiento de la reivindicación 6 o la reivindicación 7, en el que el trastorno proliferativo de linfocitos B es LNH, tal como LNH de escasa malignidad y/o LNH de gran malignidad.
9. El inmunoconjugado para su uso en un procedimiento de tratamiento de la reivindicación 6 o la reivindicación 7, en el que el trastorno proliferativo de linfocitos B es linfoma folicular de escasa malignidad o linfoma difuso de linfocitos B grandes.
- 35 10. El inmunoconjugado para su uso en un procedimiento de tratamiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que bendamustina es clorhidrato de bendamustina.
- 40 11. El inmunoconjugado para su uso en un procedimiento de tratamiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el trastorno proliferativo de linfocitos B es linfoma folicular (FL) recidivante o resistente al tratamiento o linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL) y en el que polatuzumab vedotin, bendamustina y rituximab u obinutuzumab se administran por vía intravenosa.
- 45 12. El inmunoconjugado para su uso en un procedimiento de tratamiento de la reivindicación 11, en el que el tiempo de tratamiento es de 18-24 semanas.
13. El inmunoconjugado para su uso en un procedimiento de tratamiento de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que polatuzumab vedotin se administra a una dosificación de entre 1,4-5 mg/kg.
- 50 14. El inmunoconjugado para su uso en un procedimiento de tratamiento de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que polatuzumab vedotin se administra a una dosificación de entre 1,4-5 mg/kg *q3wk*.
15. El inmunoconjugado para su uso en un procedimiento de tratamiento de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que bendamustina se administra a una dosificación de entre 25-120 mg/m².
- 55 16. El inmunoconjugado para su uso en un procedimiento de tratamiento de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que rituximab u obinutuzumab se administra a una dosificación de entre 300-1600 mg/m².
- 60 17. El inmunoconjugado para su uso en un procedimiento de tratamiento de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que polatuzumab vedotin se administra a 1,4-5 mg/kg *q3wk*, rituximab se administra a 375 mg/m² *q3wk* y bendamustina se administra a 25-120 mg/m² a diario d1 y 2 de *q3wk*.
- 65 18. El inmunoconjugado para su uso en un procedimiento de tratamiento de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que polatuzumab vedotin se administra 1,4-5 mg/kg *q3wk*, obinutuzumab se administra a 1000 mg/m² *q3wk* y bendamustina se administra a 25-120 mg/m² a diario d1 y 2 de *q3wk*.







- | | |
|-----|---|
| —▲— | 01 - Vehículo |
| —X— | 02 - GA-101, 30 mg/kg, i.p., una vez |
| —■— | 03 - GDC-0199, 100 mg/kg, v.o., qdx21 |
| —○— | 04 - GDC-0032, 10 mg/kg, v.o., qdx21 |
| —□— | 05 - Anti-CD79b-vc-MMAE, 2 mg/kg, i.v., una vez |
| —▽— | 06 - GA-101 + Anti-CD79b-vc-MMAE |
| —△— | 07 - GA-101 + GDC-0199 |
| —△— | 08 - GA-101 + GDC-0032 |
| —▽— | 09 - GA-101 + Anti-CD79b-vc-MMAE + GDC-0199 |
| —△— | 10 - GA-101 + Anti-CD79b-vc-MMAE + GDC-0032 |
| —▽— | 11 - Rituximab, 30 mg/kg, i.p., una vez |
| —+— | 12 - Rituximab + Anti-CD79b-vc-MMAE |

FIG. 4