

О. С. Калюжная, Н. В. Хохленкова

Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України

Досягнення в галузі терапевтичних моноклональних антитіл: структура, стратегії розроблення та інноваційні форми

Мета – комплексний аналіз еволюції технологій отримання моноклональних антитіл, від класичної гібридомної до сучасних трансгенних платформ, з оцінкою їхнього впливу на розроблення повністю людських, біспецифічних та кон'югованих моноклональних антитіл (МкАТ).

Матеріали та методи. Дослідження базується на систематичному огляді літератури з баз даних PubMed, Scopus, Web of Science та регуляторних джерел (FDA Purple Book, EMA Medicines database).

Результати та їхнє обговорення. Гібридомна технологія, розроблена в 1975 році, лягла в основу перших МкАТ, але мишаче походження спричиняло високу імуногенність (НАМА). Еволюція привела до химерних та гуманізованих МкАТ з 95 % гомологією до людських IgG для зменшення НАСА/НАНА. Повністю людські МкАТ генеруються фаговим дисплеєм, одиничними В-клітинами і трансгенними тваринами. Трансгенні платформи (XenoMouse, HuMabMouse, VelocImmune, OmniAb) забезпечують *in vivo* дозрівання з повним людським репертуаром. Біспецифічні антитіла (bsAb) мінімізують токсичність через Т-клітинну активацію або блокування сигнальних шляхів. Кон'юговані МкАТ (ADC) доставляють цитостатики селективно.

Висновки. Еволюція методів отримання МкАТ дозволила мінімізувати імуногенність та оптимізувати терапевтичну ефективність препаратів. Упровадження bsAb та ADC розширило можливості селективної імунотерапії. Подальший розвиток галузі пов'язаний з інтеграцією штучного інтелекту для дизайну CDR-регіонів, застосуванням CRISPR/Cas9 та розробленням мультиспецифічних антитіл для подолання резистентності пухлин і лікування нейродегенеративних захворювань.

Ключові слова: імуноглобуліни; моноклональні антитіла; інноваційні препарати.

O. S. Kaliuzhnaia, N. V. Khokhlenkova

National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine

Advances in therapeutic monoclonal antibodies: the structure, development strategies, and innovative forms

Aim. To comprehensively analyze the evolution of monoclonal antibody production technologies, ranging from classical hybridoma methods to modern transgenic platforms, with an assessment of their impact on the development of fully human, bispecific, and antibody-drug conjugates (ADCs).

Materials and methods. The study is based on a systematic literature review of the PubMed, Scopus, and Web of Science databases, as well as regulatory sources (FDA Purple Book, EMA Medicines database).

Results. The hybridoma technology developed in 1975 laid the foundation for the first monoclonal antibodies (mAbs); however, their murine origin resulted in high immunogenicity (HAMA). Evolution led to the development of chimeric and humanized mAbs with 95 % homology to human IgG to reduce НАСА/НАНА responses. Fully human mAbs are currently generated using a phage display, the single B-cell isolation, and transgenic animals. Transgenic platforms (XenoMouse, HuMabMouse, VelocImmune, OmniAb) provide the *in vivo* maturation with a complete human repertoire. Bispecific antibodies (bsAb) minimize toxicity through the T-cell activation or pathway blockade, while antibody-drug conjugates (ADCs) deliver cytotoxic agents selectively.

Conclusions. The evolution of mAb production methods has made it possible to minimize immunogenicity and optimize the therapeutic efficacy of drugs. The introduction of bsAbs and ADCs has expanded the potential for selective immunotherapy. Future developments in the field are linked to the integration of artificial intelligence for the CDR design, the application of CRISPR/Cas9, and the engineering of multi-specific antibodies to overcome tumor resistance and treat neurodegenerative diseases.

Keywords: immunoglobulins; monoclonal antibodies; novel therapeutics.

Вступ. Моноклональні антитіла (МкАТ) на сьогодні є одним із найбільш динамічних сегментів світового ринку біологічних лікарських засобів [1-3]. З моменту відкриття гібридомної технології Г. Келером та С. Мілштейном у 1975 році, біотехнологія антитіл пройшла шлях від перших мишачих конструкцій до повністю людських молекул, що широко застосовуються в терапії онкологічних, аутоімунних та інфекційних захворювань. Основною причиною цього розвитку стала необхідність мінімізації імуногенності та оптимізації фармакокінетичних параметрів,

що зумовило появу високоефективних трансгенних платформ та інноваційних терапевтичних форм, зокрема біспецифічних антитіл і кон'югатів «антитіло – препарат».

У роботі проаналізовано структурні особливості імуноглобулінів, етапи історичного розвитку методів їхнього отримання, а також охарактеризовано провідні технологічні платформи та їхнє клінічне значення з урахуванням наявних переваг і викликів. На сьогодні регуляторними органами США та ЄС (FDA, U.S. Food and Drug Administration – Управління

з продовольства і медикаментів США та ЕМА, European Medicines Agency – Європейське агентство з лікарських засобів) схвалено близько 200 препаратів на основі МкАТ [4-6]. У статті наведено детальну характеристику найбільш перспективних представників людських, біспецифічних та кон'югованих МкАТ, що визначають сучасні стандарти таргетної терапії.

Мета – комплексний аналіз еволюції технологій отримання моноклональних антитіл, від класичної гібридомної до сучасних трансгенних платформ, з оцінкою їхнього впливу на розроблення повністю людських, біспецифічних та кон'югованих МкАТ.

Матеріали та методи. Дослідження базується на систематичному огляді літератури з баз даних PubMed, Scopus, Web of Science та регуляторних джерел (FDA Purple Book, EMA Medicines database). Ключові слова: «monoclonal antibodies», «hybridoma technology», «transgenic mice platforms», «bispecific antibodies», «antibody-drug conjugates». Аналіз проводився за такими критеріями: структура антитіл, технології отримання, клінічні схвалення, ефективність, безпека. Таблиці сформовано на основі хронологічного і технологічного групування.

Результати та їхнє обговорення. Антитіла (імуноглобуліни, Ig) – спеціалізовані глікопротеїни, що синтезуються В-лімфоцитами хребетних у відповідь на антигенну стимуляцію. Їхня основна роль полягає в ідентифікації, нейтралізації або елімінації антигенів. Здатність антитіл до тривалої циркуляції в системному кровотоці після первинного контакту з антигеном формує основу імунологічної пам'яті та захисту від повторних інфекцій [7].

Типова молекула імуноглобуліну (рис. 1) складається з двох ідентичних важких (H, Heavy chain) та двох ідентичних легких (L, Light chain) поліпептидних ланцюгів. Н-ланцюги ковалентно з'єднані між собою і з одним L-ланцюгом дисульфідними містками, концентрація яких є найвищою в шарнірній ділянці або «талії» молекули. Ця ділянка забезпечує

конформаційну лабільність субодиниць, дозволяючи їм обернутися для оптимального зв'язування з антигеном. Н-ланцюг складається із 440-450 амінокислотних залишків (молекулярна маса близько 50 кДа), L-ланцюг складається із 220-230 амінокислотних залишків (Мм близько 25 кДа). Кожен ланцюг містить варіабельні V- (variable) та константні C- (constant) ділянки. Варіабельність амінокислотної послідовності у V-ділянках визначає унікальну епітопну специфічність кожного антитіла [7, 8].

Структурно в молекулі Ig виділяють функціональні Fab- (Fragment antigen-binding – фрагмент, що зв'язує антиген) та Fc- (Fragment crystallizable – фрагмент, що кристалізується) фрагменти. Молекула антитіла має два Fab-фрагменти (по одному на кожному «плечі» Y-форми), кожен з яких складається з одного L-ланцюга і N-кінцевого домену H-ланцюга. Він містить варіабельні ділянки (V-домени), включаючи гіперваріабельні петлі (CDR – complementarity-determining regions), які формують сайт зв'язування з антигеном. Fab специфічно розпізнає та зв'язується з епітопом на поверхні цільової молекули, вірусу, клітини або патогену та блокує взаємодію антигена з рецепторами. Fc-фрагмент складається з C-кінцевих доменів важких ланцюгів, є консервативним і містить сайти глікозилювання, які впливають на функцію. Fc-фрагмент відповідає за ефекторні функції, зокрема за активацію системи комплементу, взаємодію з клітинними рецепторами та транспорт крізь плацентарний бар'єр [7, 8].

Як клас біологічних лікарських засобів моноклональні антитіла належать до штучно створених білків, які імітують природні антитіла імунної системи для зв'язування з конкретними антигенами. Механізми дії терапевтичних МкАТ реалізуються через Fab-і Fc-фрагменти молекули. Fab-опосередковані ефекти містять нейтралізацію (блокування взаємодії антигена з рецепторами, наприклад, VEGF у бевацизумабі або HER2 у трастузумабі), інгібування сигнальних

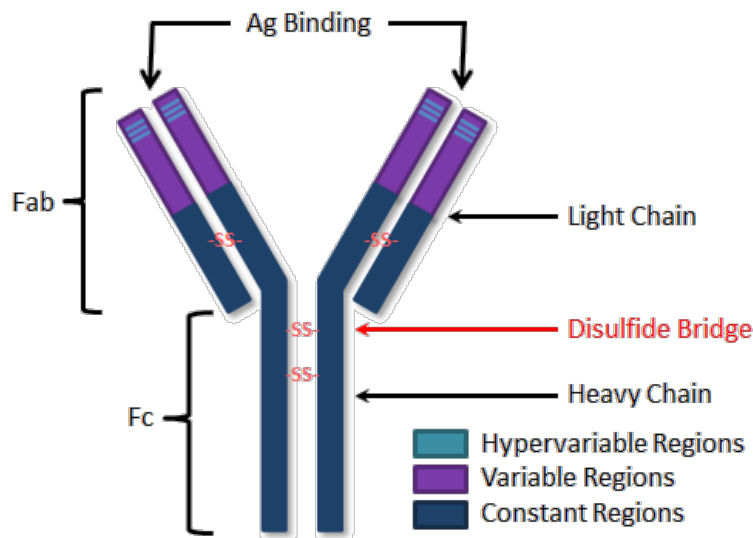


Рис. 1. Структура імуноглобуліну (ілюстрація взята з [7]): Ag Binding – антигензв'язувальні ділянки; Fab- та Fc-фрагменти; Light Chain – легкий ланцюг; Heavy Chain – важкий ланцюг; Disulfide Bridge – дисульфідний місток; Hypervariable Regions – гіперваріабельна ділянка; Variable Regions – змінна (варіабельна) ділянка; Constant Regions – стала (константна) ділянка

шляхів та індукцію апоптозу. Fc-опосередковані ефекти охоплюють антитілозалежну клітинну цитотоксичність (ADCC), комплементзалежну цитотоксичність (CDC) та антитілозалежний клітинний фагоцитоз (ADCP). У ADCC Fc-ділянка IgG1 зв'язується з рецептором FcγRIIIa (CD16) на натуральних кілерних (NK) клітинах, що призводить до вивільнення перфोरину та гранзимів (серинових протеаз), які індукують апоптоз цільової клітини. У CDC Fc-ділянка взаємодіє з першим компонентом комплементу C1q, активуючи класичний каскад комплементу з утворенням мембраноатакувального комплексу (MAC), що спричиняє осмотичний лізис клітини. ADCP реалізується через FcγR на макрофагах і нейтрофілах. Додатково Fc-фрагмент взаємодіє з неонатальним Fc-рецептором (FcRn). Важливими є також агоністичні ефекти щодо рецепторів (наприклад, блокування PD-1/PD-L1) [9, 10].

У контексті розроблення терапевтичних МкАТ ключове значення мають природні класи імуноглобулінів людини. Вони класифікуються на п'ять основних ізотипів на основі структури важких ланцюгів: IgM, IgG, IgA, IgE та IgD. Кожен клас має унікальну структуру, функції та розподіл в організмі. Класифікація базується на антигенних відмінностях константних доменів важких ланцюгів (μ, γ, α, ε, δ). Легкі ланцюги (κ або λ) спільні для всіх класів. Для створення терапевтичних МкАТ переважно використовується клас IgG, зокрема підкласи IgG1 та IgG4 [8], що обумовлено високою стабільністю та сприятливим фармакокінетичним профілем. Завдяки специфічній взаємодії з FcRn період напіввиведення IgG може досягати 21 добу, що дозволяє суттєво оптимізувати режим дозування препаратів. Функціональна диференціація підкласів IgG дозволяє адаптувати механізм дії препарату до конкретних клінічних завдань. Зокрема підклас IgG1 ефективно індукує ADCC та CDC, що важливо для розроблення онкологічних препаратів, а IgG4, що характеризується слабшими ефекторними функціями, але низькою імуногенністю, є оптимальним вибором для створення блокувальних антитіл. Також слід відзначити технологічну зручність – IgG легко експресується в клітинних лініях за допомогою рекомбінантної ДНК-технології (рДНК). Використання інших класів імуноглобулінів залишається обмеженим через великий розмір та короткий період напіввиведення або вузьку спеціалізацію та ризики небажаних імунних реакцій [11].

Згідно із загальною монографією EPh 12.2 «Моноклональні антитіла для використання людиною – це препарати імуноглобуліну або фрагмента імуноглобуліну, наприклад, F(ab')₂, з визначеною специфічністю, що продукуються клітинами одного клону (В-лімфоцита). Вони можуть бути кон'юговані з іншими речовинами, зокрема для радіоактивного мічення» [12].

Епоха використання терапевтичних МкАТ бере свій початок у 1984 році, коли Нільс Кай Єрне (Niels K. Jerne), Георг Келер (Georges J. F. Köhler) та Сезар Мільштейн (César Milstein) отримали Нобелівську премію

з фізіології та медицини за «теорії щодо специфічності в розвитку і контролі імунної системи і відкриття принципу продукції моноклональних антитіл» [13]. Гібридомна технологія, розроблена Г. Келером та С. Мільштейном, базується на принципі соматичної гібридизації антитілопродукувального В-лімфоцита з пухлинною клітиною мієломи, що забезпечує отриманому гібриду властивість «безсмертя» – здатність до необмеженої проліферації *in vitro* [14]. Процес отримання специфічних імуноглобулінів (IgG) розпочинається з етапу імунізації лабораторної тварини (традиційно мишей) відповідним антигеном для ініціації гуморальної імунної відповіді. Після досягнення необхідного титру антитіл зі спленоцитів імунізованої тварини виділяють зрілі В-лімфоцити, які згодом піддають злиттю з клітинами мієломи. Оскільки спонтанне злиття клітин є статистично рідкісним явищем, для інтенсифікації процесу на ранніх етапах розвитку технології застосовували вірус Сендай (на сучасному етапі частіше використовують поліетиленгліколь або електропорацію), що сприяє формуванню стабільних гібридом. Ключовим етапом циклу є селекція гібридом, ефективність якої детермінується генетичними характеристиками вихідних клітинних ліній та складом поживних середовищ. Оптимальними партнерами для злиття вважаються лінії мієломи з дефектами метаболізму, зокрема з інактивованим геном гіпоксантин-гуанінфосфорибозилтрансферази (HGPRT). Додатковою перевагою таких ліній є втрата здатності до синтезу власних IgG, що суттєво спрощує подальшу ізоляцію та очищення цільового продукту. Фермент, кодований геном HGPRT, відіграє критичну роль у «запасному» шляху синтезу пуринів; за його відсутності клітина втрачає здатність до регенерації нуклеотидів. За культивування на селективному середовищі НАТ (гіпоксантин-аміноптерин-тимідин) аміноптерин блокує основний шлях синтезу нуклеїнових кислот *de novo*, внаслідок чого незлиті клітини мієломи гинуть. Вживають лише гібридоми, які отримали функціональний ген HGPRT від В-лімфоцита [15]. Після інкубації культуральне середовище аналізують на наявність антитіл заданої специфічності. Антитіла, секретовані клонами однієї гібридоми, є ідентичними за своєю структурою та епітопною спорідненістю, що визначає їх як МкАТ [16].

Практичне впровадження гібридомної технології відбулося вже у 1986 році, коли FDA схвалило перший терапевтичний препарат МкАТ – муромонаб-CD3 (muromonab-CD3) під торговою назвою (ТН) Orthoclone OKT3, призначений для запобігання відторгненню ниркового трансплантата [17].

Перші препарати МкАТ мали повністю мишаче походження, що зумовлювало високу імуногенність, розвиток побічних ефектів та синтез людських антимишачих антитіл (НАМА, human anti-mouse antibodies), які значно знижували терапевтичну ефективність через прискорений кліренс препарату [18].

Для нівелювання недоліків ранніх мишачих МкАТ біотехнологія еволюціонувала в напрямі гуманізації

IgG шляхом використання технологій рДНК. Класифікація сучасних МкАТ базується на їхньому походженні та ступені гомології з людськими білками: мишачі містять 100 % мишачих послідовностей; химерні складаються приблизно з 70-75 % людських послідовностей (константні домени) та 25-30 % мишачих (варіабельні домени); гуманізовані містять близько 90-95 % людських послідовностей, лише гіперваріабельні ділянки (CDR) мають ксеногенне походження; повністю людські характеризуються 100 % гомологією послідовностей до Ig людини (рис. 2) [19].

Мишачі антитіла, отримані за традиційною гібридомною технологією, характеризуються коротким періодом напіввиведення та низьким профілем безпеки, тому наступним етапом стало розроблення химерних МкАТ, у яких варіабельні домени мишачого походження інтегровані з константними домонами людського IgG. Першим химерним МкАТ, схваленим FDA у 1994 році, став абциксимаб (abciximab, TH Reopro), що зв'язується з рецепторами глікопротеїну GP IIb/IIIa на поверхні тромбоцитів, фізично блокуючи їхнє злипання, завдяки чому застосовується у кардіології для попередження утворення тромбів [20]. В Україні з-поміж представників химерних МкАТ зареєстровані препарати ритуксимабу (rituximab). Референсний продукт схвалений як перше химерне МкАТ для онкології (проти білка CD20 на поверхні В-лімфоцитів) у 1997 році в США (TH Rituxan) та в 1998 році в Європі (TH MabThera). На вітчизняному ринку наявні як оригінальні препарати, так і біосиміляри: Труксима (перший біосиміляр ритуксимабу, схвалений у ЄС у 2017 році та в США у 2018 році [21]), Реддитукс, Риксатон, Руксієнс [22].

Незважаючи на підвищену терапевтичну ефективність та знижену імуногенність химерних антитіл

порівняно з мишачими аналогами, їхнє застосування обмежується ризиком ініціації НАСА-відповіді (human anti-chimeric antibodies, людські антитіла проти химерних антитіл). З метою подальшої мінімізації антигенного навантаження, починаючи з 1980-х років, було розроблено стратегію створення гуманізованих МкАТ. У структурі таких молекул лише гіперваріабельні ділянки (CDR), відповідальні за безпосередню взаємодію з антигеном, та окремі амінокислотні залишки каркасних регіонів (FR, framework regions) V-доменив мають ксеногенне походження. Решта компонентів молекули, включно з каркасними ділянками та константними домонами, є гомологічними Ig людини, що забезпечує високу біосумісність препарату [23]. Першим схваленим гуманізованим МкАТ був даклізумаб (daclizumab), спрямований проти рецептора CD25 (альфа-ланцюга рецептора інтерлейкіну IL-2) на Т-лімфоцитах [24]; під ТН Zenарах схвалений FDA у 1997 році для запобігання гострого відторгнення трансплантата нирки, у 2016 році під ТН Zinbryta – для лікування розсіяного склерозу, але у 2018 році через серйозні побічні ефекти препарат був вилучений з ринку. Створення гуманізованих МкАТ дозволило досягти 95 % гомології з Ig людини.

На вітчизняному фармацевтичному ринку сегмент гуманізованих МкАТ представлений, зокрема, препаратами трастузумаб (trastuzumab, ТН Herceptin) та бевацизумаб (bevacizumab, ТН Avastin). Трастузумаб є рекомбінантним гуманізованим к-антитілом класу IgG1 і став першим гуманізованим МкАТ, схваленим для використання в онкології у 1998 році [25]. МкАТ синтезується в системі клітин яєчників китайського хом'яка (СНО) і містить мишачі гіперваріабельні ділянки, інтегровані в людський білковий каркас. Механізм дії трастузумабу базується на

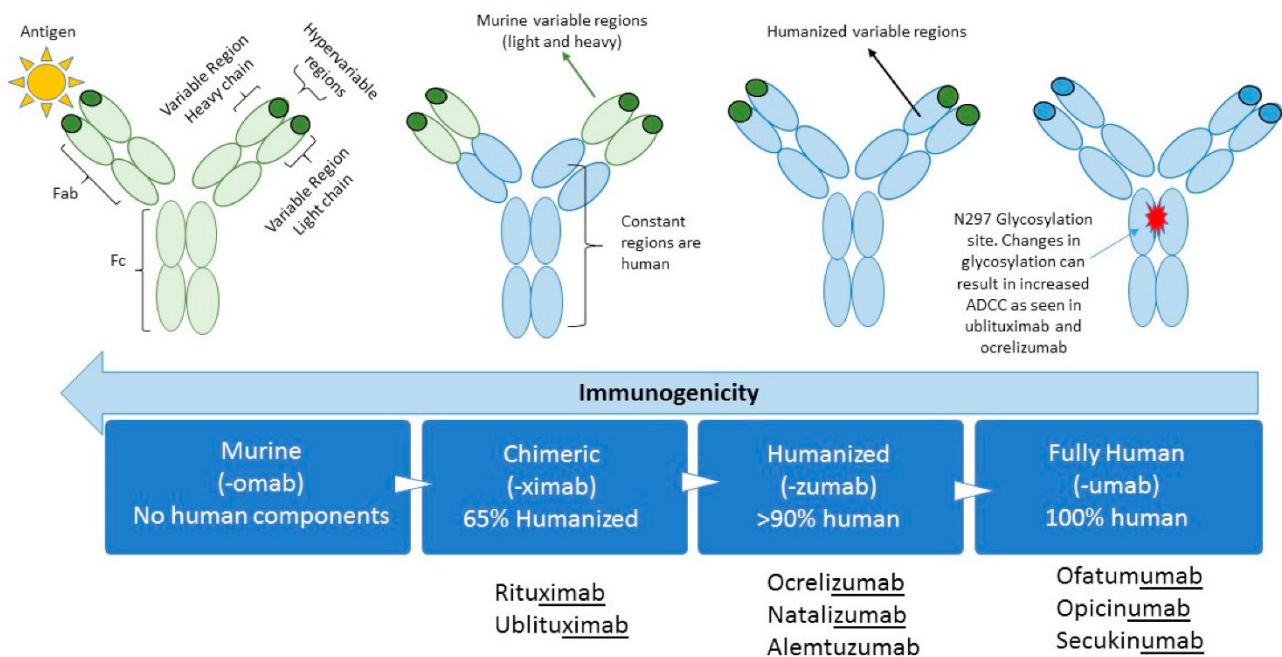


Рис. 2. Типи МкАТ залежно від походження (ілюстрація взята з [19]): Murine – мишачі, Chimeric – химерні: варіабельні ділянки мишачого походження (Murine variable regions (light and heavy)) – зеленого кольору, решта ланцюгів людського походження (Human constant regions) – блакитного кольору; Humanized – гуманізовані: містять лише гіперваріабельні сегменти мишачого походження (Murine hypervariable regions) – темно-зеленого кольору; Fully Human – людські

високоспецифічному зв'язуванні з позаклітинним доменом рецептора 2 епідермального фактора росту людини (HER2), що зумовлює його високу ефективність у терапії HER2-позитивного раку молочної залози (як локалізованого, так і метастатичного), а також розповсюдженої аденокарциноми шлунка або гастро-езофагеального сполучення.

Основними мішенями бевацизумабу є ізоформи фактора росту ендотелію судин (VEGF), який відіграє ключову роль у процесах фізіологічного та патологічного ангіогенезу. Блокуючи взаємодію VEGF з його специфічними рецепторами (Flt-1 та KDR) на поверхні ендотеліальних клітин, бевацизумаб інгібує васкуляризацію та неангіогенез у пухлинній тканині, нормалізує архітектоніку судин і перешкоджає подальшій проліферації новоутворення. Препарат упродовженний у протоколи лікування широкого спектра пухлин, зокрема поширеного колоректального раку та раку нирки, метастатичного раку молочної залози, неоперабельного недрібноклітинного раку легень, гліобластоми, онкопатологій репродуктивної системи (рак яєчників, маткових труб, шийки матки) [26].

Попри значне переважання людських амінокислотних послідовностей у структурі гуманізованих МкАТ порівняно з химерними конструкціями, ризик розвитку адаптивної імунної відповіді залишається актуальним. Така реакція виявляється синтезом антитіл проти Ig людини (НАНА – human anti-human antibodies). Характерною особливістю імуногенності є її виражена селективність, що корелює зі ступенем олюднення молекули: якщо НАМА-відповідь зазвичай спрямована на всю структуру мишачого антитіла, а НАСА-реакція – переважно на його варіабельні домени, то НАНА-відповідь вирізняється вузькою фокусністю – основною антигенною мішенню стають виключно ділянки, що визначають комплементарність (CDR).

Сучасна розробка повністю людських МкАТ базується на трьох основних технологіях: фагового дисплея, одиничних В-клітин та використанні трансгенних тварин.

Технологія фагового дисплея дозволяє проводити *in vitro* селекцію високоафінних фрагментів антитіл (scFv або Fab) із синтетичних або наївних бібліотек [27]. Першим препаратом, отриманим цим методом, став адалімумаб (adalimumab, ТН Humira), який з моменту реєстрації входив до препаратів «блокбастерів»; зареєстрований і в Україні. Використання технології фагового дисплея дозволило отримати характерні для людини варіабельні ділянки Н- та L-ланцюгів, які виявляють свою специфічність щодо фактора некрозу пухлин, а також важкий ланцюг IgG1 людини та послідовність L-ланцюгів κ-типу. МкАТ виробляється шляхом отримання рДНК в експресувальній системі клітин ссавців. Уперше адалімумаб схвалений FDA у 2002 році для лікування ревматоїдного артрити, наразі використовується також і для лікування ювенільного ревматоїдного артрити, анкілозуючого спондилоартрити, псоріатичного артрити, псоріазу, неспецифічного виразкового коліту та хвороби Крона [28].

Метод одиничних В-клітин заснований на отриманні повністю людських МкАТ шляхом ізоляції окремих В-клітин з периферичної крові вакцинованих або інфікованих донорів (людини чи тварин). Надалі проводять сортування клітин проточною цитометрією за антигенспецифічністю, ампліфікацію генів VH та VL з допомогою RT-PCR (ПЛР зі зворотною транскрипцією), клонування в експресійні вектори та виробництво МкАТ. Основними перевагами методу ізоляції одиничних В-клітин є можливість швидкої генерації нативних імуноглобулінів, що пройшли природний процес соматичної гіпермутації та селекції *in vivo*. Це забезпечує високу афінність та специфічність отриманих молекул за мінімального ризику імуногенності, оскільки отримані послідовності є повністю людськими та не потребують додаткової гуманізації [29]. Відсутність етапу створення гібридом значно скорочує терміни розроблення терапевтичних агентів, що є критично важливим в умовах пандемій, як це було продемонстровано на прикладі розробки МкАТ сотровімаб (sotrovimab, ТН Xevudy) для лікування COVID-19 [30]. Але недоліками цього підходу є залежність від якості та доступності донорського біоматеріалу та низька різноманітність порівняно з бібліотеками методу фагового дисплея.

Паралельно розвивався метод трансгенних тварин, у яких власні локуси імуноглобулінів замінені людськими. Це дозволяє отримувати повністю людські антитіла *in vivo*, що проходять природне соматичне гіпермутування та селекцію. Першим схваленим людським МкАТ, отриманим цим методом, був панітумумаб (panitumumab, ТН Vectibix) (FDA 2006 р., ЕМА 2007 р.) [31], на сьогодні кількість зареєстрованих повністю людських МкАТ, отриманих методом трансгенних тварин, досягає 22 (табл. 1).

У виробництві панітумумабу використовують платформу XenoMouse®, яка є першою комерційно успішною лінією трансгенних мишей; технологія була розроблена компанією «Abgenix» (1994–1996 рр.) і пізніше придбана «Amgen» у 2006 р. [32–34]. XenoMouse створена за допомогою генетичної інженерії з використанням низки маніпуляцій: вимкнені мишачі гени імуноглобулінів (важкий ланцюг IgH, Igκ і частково Igλ) та введені відповідні великі фрагменти людських генів Ig. У результаті миша має майже повний людський репертуар антитіл. Для отримання МкАТ за допомогою такої трансгенної миші тварину імунізують цільовим антигеном та використовують класичну гібридомну технологію, або метод одиничних В-клітин, або фаговий дисплей з лімфоцитів [34].

Окрім платформи XenoMouse, у виробництві МкАТ використовують також лінії трансгенних мишей HuMabMouse® від компанії «Bristol-Myers Squibb», раніше «Medarex», та VelocImmune Mouse від компанії «Regeneron». Платформи відрізняються за стратегіями генетичної інженерії, зокрема за ступенем інтеграції людських генів та вибором константних регіонів, які впливають на різноманітність антитіл, дозрівання афінності та ефекторні функції [35].

Таблиця 1

Людські МкАТ, отримані методом трансгенних тварин [2, 4-6, 34, 35]

Міжнародна непатентована назва (МНН)	Торгова назва	Компанія-виробник	Рік схвалення (FDA / EMA)	Мішень, механізм, застосування
1	2	3	4	5
Платформа XenoMouse® (Amgen, раніше Abgenix). Технологія конструювання – трансгенез шляхом уведення мегабазних локусів H- і L-ланцюгів Ig людини мишам з інактивованими ендогенними локусами мишачого Ig. Мегабазні локуси людини hVH/hVK (17/17), константні ділянки людини (Cμ-Сδ-Сγ2). Ці миші продукують повністю людські антитіла В-клітинами після імунізації. Вони мають повний репертуар генів людських антитіл, які проходять <i>in vivo</i> соматичну гіпермутацію та дозрівання афінності, імітуючи природну селекцію				
Панітумумаб (Panitumumab)	Vectibix	Amgen	2006 / 2007	EGFR (рецептор епідермального фактора росту), стимулює проліферацію пухлинних клітин; блокування гальмує ріст колоректального раку
Деносумаб (Denosumab)	Prolia, Xgeva	Amgen	2010 / 2010	RANKL (білок, що активує остеокласти), інгібування запобігає руйнуванню кісткової тканини у разі остеопорозу та метастазів
Еволокумаб (Evolocumab)	Repatha	Amgen	2015 / 2015	PCSK9 інгібування, посилює здатність печінки видаляти холестерин низької щільності з циркуляції
Секукінумаб (Secukinumab)	Cosentyx	Novartis	2015 / 2015	IL-17α (цитокін, відповідальний за патогенез псоріазу та анкілозуювального спонділіту), блокування усуває шкірні та суглобові прояви
Дурвалумаб (Durvalumab)	Imfinzi	Medimmune/ AstraZeneca	2017 / 2018	PD-L1 (ліганд, який пухлина використовує для маскування), блокування робить ракові клітини «видимими» для імунітету
Еренумаб (Erenumab)	Aimovig	Novartis / Amgen	2018 / 2018	СGRPR (рецептор пептиду, пов'язаного з геном кальцитоніну), бере участь у передачі сигналів болю; блокування запобігає нападам мігрені
Платформа HuMAb Mouse® (Bristol-Myers Squibb, раніше Medarex). Технологія конструювання – подібна до попередньої, містить трансгенез із заміною мишачих локусів Ig на людські локуси H- і L-ланцюгів. Уведення генів людини hVH/hVK (4/4), константна ділянка людини (Cμ). Миші мають різноманітний репертуар повністю людських антитіл				
Уstekінумаб (Ustekinumab)	Stelara	Johnson & Johnson	2009 / 2009	IL-12 / IL-23 (прозапальні цитокіни), їхнє блокування перериває каскад запалення у разі псоріазу та хвороби Крона
Канакінумаб (Cankinumab)	Ilaris	Novartis	2009 / 2009	IL-1β (ключовий медіатор автозапалення), таргетування знижує системну запальну відповідь у разі рідкісних синдромів періодичної гарячки
Голімумаб (Golimumab)	Simponi	Johnson & Johnson/ Merck	2009 / 2009	TNFα (фактор некрозу пухлин), центральний цитокін у разі ревматоїдного артриту; блокування зменшує деструкцію суглобів
Іпілімумаб (Ipilimumab)	Yervoy	Bristol-Myers Squibb	2011 / 2011	CTLA-4 (інгібіторний рецептор на Т-клітинах), блокування «знімає гальма» з імунної системи для атаки на пухлину
Ніволумаб (Nivolumab)	Opdivo	Bristol-Myers Squibb	2014 / 2015	PD-1 (рецептор імунної контрольної точки), перешкоджає пухлині інактивувати Т-лімфоцити, відновлюючи протипухлинний імунітет
Даратумумаб (Daratumumab)	Darzalex	Johnson & Johnson (Genmab)	2015 / 2016	CD38 (антиген, що масивно експресується на клітинах мієломи), викликає прямий лізис пухлинних клітин

Продовження табл. 1

1	2	3	4	5
Оларутумаб (Olaratumab)	Lartruvo	Eli Lilly	2016 / 2016 Відкликано (2019): результати дослідження фази III ANNOUNCE не підтвердили клінічної ефективності (відсутність переваги у виживаності)	PDGFRα (рецептор факторів росту), блокування перериває сигнали до поділу клітин у м'якотканинних саркомах
Платформа VelocImmune® (Regeneron Pharmaceuticals). Технологія конструювання – «VelociGene®» для точного великомасштабного <i>in situ</i> заміщення локусів мишачого Ig на людські шляхом гомологічної рекомбінації в ембріональних стовбурових клітинах. Уведення генів людини hVH/hVK (47/23), константна ділянка миші. Миші мають різноманітний, природно зрілий репертуар людських антитіл				
Алірокумаб (Alirocumab)	Praluent	Sanofi / Regeneron Pharmaceuticals	2015 / 2015	PCSK9 (фермент, що регулює кількість рецепторів ЛПНЩ), блокування радикально знижує рівень «поганого» холестерину в крові
Дупілумаб (Dupilumab)	Dupixent	Sanofi / Regeneron Pharmaceuticals	2017 / 2017	IL-4R (рецептор IL-4 та IL-13), спільний ланцюг для медіаторів алергії; ефективний за тяжкої астми та atopічного дерматиту
Сарилумаб (Sarilumab)	Kevzara	Sanofi / Regeneron Pharmaceuticals	2017 / 2017	IL-6R (рецептор інтерлейкіну-6), ключовий шлях хронічного запалення; таргетування ефективне за ревматоїдного артриту
Цеміплімаб (Cemiplimab)	Libtayo	Regeneron Pharmaceuticals	2018 / 2019	PD-L1 аналогічно ніволумабу, відновлює активність Т-клітин проти плоскоклітинного раку шкіри
Касирівімаб / Імдевімаб (Casirivimab / Imdevimab)	REGEN-COV / Ronapreve (в ЄС)	Regeneron Pharmaceuticals / Roche	2020 (EUA) / 2021 Обмежено (2022): FDA відкликло дозвіл на екстрене використання (EUA) через неефективність проти штамів «Омікрон»	S-білок SARS-CoV-2 Комбінація антитіл проти S-білка вірусу SARS-CoV-2 (COVID-19)
Евінакумаб (Evinacumab)	Evkeeza	Regeneron Pharmaceuticals	2021 / 2021	ANGPTL3 (інгібітор ангіопоетин-подібного білка 3), корекція ліпідного профілю за сімейної гіперхолестеринемії
Позелімаб (Pozelimumab)	Veopoz	Regeneron Pharmaceuticals	2023 / 2024	C5 компонент комплекменту, для лікування рідкісної хвороби CHARLE (CD55-дефіцитна ентеропатія)
Одронекстамаб (Odronextamab)	Ordsprono	Regeneron Pharmaceuticals	2024 / 2024	CD20 / CD3, біспецифічне антитіло для лікування лімфом
Платформа OmniAb® (OmniAb, Inc., раніше – підрозділ Ligand Pharmaceuticals). Технологія конструювання – «Biological Intelligence™», що базується на генетичній модифікації різних видів тварин (щурів, мишей, курей) для експресії людських варіабельних доменів. Ключова технологія OmniRat® реалізована шляхом інактивації ендогенних локусів гризуна та інтеграції мегабазних транслокусів людини, що містять повний репертуар генів hVH/hVK (22/12) та hVA. Використання технологій OmniFlic® (варіант OmniRat для біспецифічних антитіл) забезпечує експресію єдиного L-ланцюга для спрощеної розробки біспецифічних антитіл. Тварини продукують повністю людські антитіла, що пройшли природну селекцію та соматичну гіпермутацію <i>in vivo</i>				
Теклістамаб (Teclistamab)	Tecsyali	Janssen (Johnson & Johnson)	2022 / 2022	BCMA / CD3, біспецифічне антитіло; перенаправляє Т-клітини на міломну пухлину

За технологією компанії «Medarex», яка у 1993 році отримала лінію мишей HuMabMouse, був розроблений ніволумаб (nivolumab, ТН Opdivo) – інгібітор контрольних точок імунітету (PD-1), що кардинально змінив прогноз у разі метастатичної меланоми та раку легень [34].

У технологіях «Medarex» та «Abgenix» використовувалось перенесення всього людського гена Ig. Але потенційні ризики «слабкої» імунної відповіді у мишей через не завжди ефективну взаємодію людських константних ділянок з мишачими імунними клітинами (В-клітинними рецепторами) призвели до використання «химерних локусів», тобто константні ділянки залишали мишачими. Миша продукує антитіло, де варібельна частина (що розпізнає антиген) – людська, а константна – мишача. Це дозволяє імунній системі миші працювати «рідними» механізмами, забезпечуючи краще дозрівання антитіл. У процесі виробництва МкАТ мишачу константну частину замінюють на людську з допомогою методів генної інженерії. Таку технологію використано компанією «Regeneron Pharmaceuticals» на початку 2000-х років для створення інструменту геномного редагування VelociGene® та платформи для генерації терапевтичних антитіл VelocImmune®. В основі VelociGene® технологія прецизійної великомасштабної маніпуляції геномом мишей. Використовуючи бактеріальні штучні хромосоми як вектори, можна здійснювати точне виключення або заміщення мишачих генів на людські аналоги безпосередньо в ембріональних стовбурових клітинах. Ключовою особливістю VelociGene® є здатність оперувати мегабазними фрагментами ДНК, що забезпечує стабільну інтеграцію складних генних локусів зі збереженням їхніх регуляторних елементів. Концепція VelocImmune® полягає в *in situ* заміні варібельних ділянок Н- і L-ланцюгів Ig миші на відповідні репертуари людських генів, одночасно константні ділянки Ig залишаються мишачими. Така стратегія «гуманізації локусів» дозволяє уникнути імунологічного дефіциту, притаманного раннім трансгенним моделям, оскільки химерні рецептори антитіл ефективно взаємодіють з ендогенними мишачими імунними клітинами та сигнальними каскадами. Функціонування платформи VelocImmune® забезпечує проходження всіх етапів природного дозрівання антитіл *in vivo*, включаючи соматичну гіпермутацію та афінну селекцію в гермінативних центрах після імунізації. У результаті імунна система тварини продукує високоафінні антитіла з людськими варібельними доменами, які володіють оптимальними фармакологічними властивостями. На етапі фінального конструювання терапевтичного препарату мишачі константні частини замінюються на людські домени IgG за допомогою методів рДНК, що призводить до створення повністю людського антитіла з низьким профілем імуногенності [34, 35].

Сучасні вдосконалення трансгенних платформ активно використовують технологію CRISPR/Cas9 для прецизійної сайт-специфічної інтеграції людських Ig-локусів або готових генів антитіл у безпечні геномні

ділянки миші (наприклад, ділянки ROSA26 на хромосомі 6 та H11 на хромосомі 11). Такий підхід забезпечує стабільну та передбачувану високу експресію антитіл, повністю усуває позиційні ефекти випадкової інтеграції, значно прискорює генерацію нових ліній тварин та підвищує вихід функціональних повністю людських МкАТ [36, 37].

На основі технології від компанії «Regeneron Pharmaceuticals» на фармацевтичний ринок виведено низку блокбастерів, зокрема алірокумаб (alirocumab, ТН Praluent), що здатен знизити рівень ЛПНЩ на 50-60 % навіть у найскладніших випадках, значно зменшуючи ризик інфарктів; дупілумаб (dupilumab, ТН Dupixent), який став «золотим стандартом» за алергічного запалення через здатність одночасно блокувати два ключові цитокіни – IL-4 та IL-13; та цеміплімаб (cemiplimab, ТН Libtayo), який аналогічно до відомих Opdivo та Keytruda є інгібітором імунних контрольних точок (PD-1), але став першим препаратом, схваленим саме для пацієнтів із запущеним плоскоклітинним раком шкіри, яким не підходила операція чи опромінення [4, 5, 34].

Сучасний сегмент біотехнологічного ринку представлений низкою інноваційних платформ, що перебувають на різних етапах апробації та впровадження. До переліку перспективних систем для генерації повністю людських МкАТ належать: KuMouse® (Sanofi, раніше Kymab), H2L2 Harbour Mice® (Harbour BioMed), Trianni Mouse® (Trianni), ATX-Gx™ Mouse (Alloy Therapeutics), CAMouse™ (CAMAB), HUGO-Ab™ (Cyagen), RenMab™ (Biocytogen), RenLite™ (Biocytogen), THX Mouse (Thousand Oaks Biotherapeutics) [34, 35].

На відміну від більшості вузькоспеціалізованих трансгенних платформ, що базуються виключно на моделях мишей, платформи OmniAb® (на сьогодні незалежна компанія «OmniAb, Inc.», раніше – підрозділ «Ligand Pharmaceuticals») включають диверсифікований набір біологічних господарів, зокрема щурів, курей та велику рогату худобу. Концепція Biological Intelligence™, покладена в основу цієї системи, дозволяє отримувати антитіла з унікальними характеристиками та репертуарами, оптимізованими для специфічних фармакологічних стратегій [38].

Ключовим елементом компанії є OmniRat® – перша у світі платформа на основі трансгенних щурів з інтегрованими повними локусами людських генів Ig. Завдяки філогенетичним особливостям щури здатні генерувати ширший спектр антитіл до складних людських мішеней порівняно з мишачими моделями. Для розроблення біспецифічних антитіл використовуються спеціалізовані лінії OmniFlic® (щури) та OmniClic® (миші), які реалізують стратегію єдиного загального L-ланцюга, що радикально спрощує подальшу інженерну збірку та виробництво багатофункціональних молекул (BsAbs), запобігаючи проблемам неправильного спарювання ланцюгів [35, 38].

Особливе місце в ієрархії OmniAb® посідає платформа OmniChicken®. Використання курей, як господарів, дозволяє подолати імунну толерантність до висококонсервативних білків ссавців, які часто

не розпізнаються імунною системою гризунів через високий ступінь гомології. Кури виробляють антитіла з одним типом легкого ланцюга (λ), що полегшує скринінг, і ефективні для антигенів, толерантних у гризунів.

Додатковою перевагою є технологія OmniTaur™, що базується на унікальній структурній організації Ig великої рогатої худоби. Такі антитіла вирізняються наддовгими ділянками CDR3, що дозволяє їм проникати у глибокі епітопи та приховані рецепторні кишені антигенів, недоступні для традиційних форматів антитіл. Завдяки інтеграції з мікрофлюїдними системами скринінгу (xPloation) та алгоритмами штучного інтелекту, платформа OmniAb® забезпечує високопродуктивний відбір найбільш перспективних кандидатів [38].

Реєстрація теклістамабу (teclistamab, ТН Tecvayli) у 2022 році, що розроблено на основі платформи OmniRat®, продемонструвала ефективність стратегії використання трансгенних щурів для створення складних мультиспецифічних антитіл. Цей препарат став першим схваленим біспецифічним Т-клітинним активатором (BiTE, Bispecific T-cell Engager), що таргетує антиген дозрівання В-клітин (BCMA) на поверхні злоякісних плазмочитів та рецептор CD3 на поверхні Т-лімфоцитів. Використання трансгенної системи OmniRat® дозволило розробникам отримати високоафінні, повністю людські варіабельні домени, які мають низький профіль імунногенності, що є критично важливим для препаратів біспецифічного формату. Механізм дії теклістамабу полягає у формуванні штучного імунного синапсу: антитіло одночасно зв'язується з пухлинною мішенню (BCMA) та Т-клітинним рецепторним комплексом, що сприяє перенаправленню цитотоксичної активності Т-лімфоцитів безпосередньо на клітини множинної мієломи, викликаючи їхню дегрануляцію та апоптоз [39, 40].

Загалом біспецифічні антитіла (bsAb, Bispecific Antibody) належать до інноваційних терапевтичних форм, які, подібно до кон'югованих МкАТ (ADC, Antibody-Drug Conjugate), розроблені для мінімізації системної токсичності та підвищення селективної ефективності лікування, насамперед у межах протипухлинної терапії. Концепція bsAb полягає у створенні молекули з двома різними плечима, де кожне плече зв'язується з різними епітопами. Один із ключових механізмів дії базується на наблизненні атипичних клітин до цитотоксичних ефекторів для полегшення їхньої елімінації шляхом одночасного зв'язування з CD3-доменом Т-клітинного рецептора та антигеном клітини-мішені (Т-клітинні активатори). Другий механізм передбачає блокування сигналіngu шляхом таргетування двох різних молекулярних вузлів специфічних сигнальних шляхів (подвійні інгібітори сигнальних шляхів) [41].

За структурою bsAb класифікують на сполуки, що складаються виключно з фрагментів (scFv, Fab або однодомні sdAb), та повнорозмірні симетричні або асиметричні антитіла на основі Fc-фрагмента

з додатковими варіабельними регіонами. Фрагментарні bsAb характеризуються малим розміром, що сприяє ефективному проникненню в пухлинні тканини, але зумовлює швидку ниркову елімінацію. Це потребує додаткових технологічних модифікацій, таких як ПЕГ'ювання або кон'югація з альбуміном для пролонгації фармакокінетичного профілю [42].

Першим у світі схваленим біспецифічним моноклональним антитілом став препарат Катумаксомаб (Catumaxomab, ТН Removab), який отримав реєстрацію ЕМА у 2009 році. Цей препарат було розроблено на основі технології Trion Hybrid, що дозволило створити трифункціональну молекулу, здатну одночасно взаємодіяти з трьома різними типами клітин. Структурно катумаксомаб є гібридним антитілом (щурячим/мишачим), де одне плече зв'язується з молекулою адгезії епітеліальних клітин (EPCAM) на поверхні пухлини, а друге – з рецептором CD3 на Т-лімфоцитах. Важливою особливістю препарату була наявність функціонального Fc-фрагмента, який додатково залучав допоміжні імунні клітини, такі як макрофаги, природні кілери та дендритні клітини, через активацію Fc γ -рецепторів. Основним показанням для застосування катумаксомабу було лікування неопластичного асцити – патологічного накопичення рідини в черевній порожнині, спричиненого метастазуванням EPCAM-позитивних карцином (зокрема раку яєчників, шлунка та підшлункової залози). Механізм дії препарату забезпечував формування складного імунного комплексу, що приводило до ефективного лізису пухлинних клітин безпосередньо в асцитичній рідині. Але катумаксомаб мав високу імунногенність, зумовлену його гетерогенним (мишачим/щурячим) походженням, та обмежений комерційний успіх і був добровільно відкликаний з ринку виробником у 2017 році. Тим не менше, він заклав фундаментальні основи для розвитку сучасних повністю людських біспецифічних платформ, які дозволяють уникати небажаних імунних відповідей організму на препарат шляхом генерації повністю людських антитіл з *in vivo* дозріванням [43-45]. На сьогодні на ринку наявні 16 зареєстрованих bsAb, більшість з яких є повністю людськими (табл. 2).

Першим препаратом класу bsAb зареєстрованим FDA став блінатумомаб (blinatumomab, ТН Blnicyto) (2014 рік). Це було перше схвалене МкАТ, створене за технологією BiTE® (Bispecific T-cell Engager). Блінатумомаб є рекомбінантною молекулою, що складається лише з двох варіабельних фрагментів (scFv), з'єднаних коротким лінкером. Відсутність Fc-фрагмента робить молекулу надзвичайно компактною, що дозволяє формувати максимально зближений «цитолітичний синапс» між Т-клітиною та CD19-позитивною пухлинною клітиною, забезпечуючи високу ефективність за гострого лімфобластного лейкозу. Але через малий розмір препарат швидко виводиться нирками, тому його вводять шляхом безперервної інфузії протягом 28 днів за допомогою портативної помпи [46].

Кон'юговані та біспецифічні МкАТ [2, 4-6, 8, 56]

МНН	Торгова назва	Компанія-виробник	Рік схвалення (FDA/EMA)	Мішень / Мішень (для V _s Ab) або Тип цитостатика (для ADC) / Застосування / Тип МкАТ
1	2	3	4	5
Кон'юговані МкАТ (ADC, Antibody-Drug Conjugate): антитіло (для таргетингу) + лінкер (для стабільності та контрольованого вивільнення) + пейлод (цитотоксичний агент); забезпечення цільового доставлення токсичного навантаження до клітин-мішеней з метою мінімізації системної токсичності				
Гемтузумаб озогаміцин (Gemtuzumab ozogamicin)	Mylotarg	Pfizer	2000 (відкликано 2010), 2017 / 2018	CD33 / Каліхеаміцин (агент, що пошкоджує ДНК) / Гостра мієлоїдна лейкемія / Гуманізоване
Ібритумомаб тіуксетан (Ibritumomab tiuxetan)	Zevalin	Biogen / Spectrum	2002 / 2004	CD20 / Радіоізотоп [90Y] (агент, що пошкоджує ДНК) / Фолікулярна лімфома / Мишаче (радіокон'югат)
Брентуксимаб ведотин (Brentuximab vedotin)	Adcetris	Pfizer (раніше Seagen) / Takeda	2011 / 2012	CD30 / MMAE (інгібітор мікротрубочок) / Лімфома Ходжкіна, системна анапластична великоклітинна лімфома / Химерне
Трастузумаб емтанзин (Trastuzumab emtansine)	Kadcyla	Roche (Genentech)	2013 / 2013	HER2 / DM1 (інгібітор мікротрубочок) / Рак молочної залози (HER2+) / Гуманізоване
Інотузумаб озогаміцин (Inotuzumab ozogamicin)	Besponsa	Pfizer	2017 / 2017	CD22 / Каліхеаміцин (агент, що пошкоджує ДНК) / Гостра лімфобластна лейкемія / Гуманізоване
Полатузумаб ведотин (Polatuzumab vedotin)	Polivy	Roche	2019 / 2020	CD79b / MMAE (інгібітор мікротрубочок) / Дифузна В-великоклітинна лімфома / Гуманізоване
Трастузумаб дерукстекан (Trastuzumab deruxtecan)	Enhertu	AstraZeneca / Daiichi Sankyo	2019 / 2021	HER2 / Дерукстекан (інгібітор топоізомерази I) / Рак молочної залози, рак шлунка, НДКРЛ (включаючи HER2-low розширення 2022/2023) / Гуманізоване
Енфортумаб ведотин (Enfortumab vedotin)	Padcev	Pfizer (раніше Seagen) / Astellas	2019 / 2022	Nectin-4 / MMAE (інгібітор мікротрубочок) / Уротеліальний рак / Людське
Сацитузумаб говітекан (Sacituzumab govitecan)	Trodely	Gilead	2020 / 2021	TROP-2 / SN-38 (інгібітор топоізомерази I) / Потрійний негативний рак молочної залози, уротеліальний рак / Гуманізоване
Белантамаб мафодотин (Belantamab mafodotin)	Blenrep	GSK	2020 / 2020 (відкликано FDA 2022, EMA 2023)	BCMA / mcMMAF (інгібітор мікротрубочок) / Множинна мієлома / Гуманізоване
Лонкастуксимаб тезирин (Loncastuximab tesirine)	Zynlonta	ADC Therapeutics	2021 / 2022	CD19 / Тезирин (агент, що пошкоджує ДНК) / Дифузна В-великоклітинна лімфома / Гуманізоване
Тізотумаб ведотин (Tisotumab vedotin)	Tivdak	Pfizer (раніше Seagen) / Genmab	2021 / 2022	TF / MMAE (інгібітор мікротрубочок) / Рак шийки матки / Людське
Мірветуксимаб соравтанзин (Mirvetuximab soravtansine)	Elahere	AbbVie (раніше ImmunoGen)	2022 / 2024	FR α / DM4 (інгібітор мікротрубочок) / Рак яєчників (платинорезистентний) / Гуманізоване
Патритумаб дерукстекан (Pacritumab deruxtecan)	HER3-DXd	Daiichi Sankyo / Merck	2024 / Розгляд	HER3 / Дерукстекан (інгібітор топоізомерази I) / НДКРЛ (EGFR-мутований) / Гуманізоване
Датопатамаб дерукстекан (Datopotamab deruxtecan)	Datroway	AstraZeneca / Daiichi Sankyo	2025 / 2025	TROP-2 / Дерукстекан (інгібітор топоізомерази I) / Рак молочної залози (HR+/HER2-) / Гуманізоване
Телізотузумаб ведотин (Telisotuzumab vedotin)	Emrelis	AbbVie	2025 / Розгляд	c-Met / MMAE (інгібітор мікротрубочок) / НДКРЛ / Гуманізоване

Продовження табл. 2

1	2	3	4	5
Біспецифічні мкАТ (BsAb, Bispecific Antibodies): антитіло з двома різними зв'язувальними сайтами (Fab-фрагменти для двох антигенів) ± Fc-домен (для ефекторних функцій або стабільності); забезпечення одночасної взаємодії з двома мішенями з метою посилення імунної цитотоксичності та зменшення оффтаргет ефектів				
Катумаксомаб (Satumaxomab)	Removab	Fresenius	- / 2009 (відкликання 2017)	ErSAM / CD3 (Т-клітинний активатор) / Неопластичний асцит / Гібридне (Мишаче/Щуряче), технологія Trion Hybrid
Блінатумомаб (Blinatumomab)	Blincyto	Amgen	2014 / 2015	CD19 / CD3 (Т-клітинний активатор) / Гострий лімфобластний лейкоз / Мишаче (BiTE® формат)
Еміцизумаб (Emicizumab)	Hemlibra	Genentech / Roche	2017 / 2018	FIXa / FX / Гемофілія А / Людське (технологія – Knob-in-Hole, для різних за розміром ланцюгів від Genentech (Roche))
Амівантамаб (Amivantamab)	Rybrevant	Janssen Biotech	2021 / 2021	EGFR / MET (Подвійний інгібітор сигнальних шляхів) / Недрібноклітинний рак легень / Людське (технологія – DuoBody, контрольований обмін Fab-руками від Genmab)
Фаріцимаб (Faricimab)	Vabysmo	Genentech / Roche	2022 / 2022	Ang-2 / VEGF-A (Подвійний інгібітор сигнальних шляхів) / Неоваскулярна вікова макулярна дегенерація; порушення зору внаслідок діабетичного макулярного набряку / Гуманізоване (CrossMAB платформа)
Тебентафусп (Tebentafusp)	Kimmtrak	Immunoscore	2022 / 2022	gp100-HLA / CD3 (Т-клітинний рецептор) / Увеальна меланома / Людське (технологія – ImmTAS для розпізнавання ракових маркерів всередині клітини)
Мосунетузумаб (Mosunetuzumab)	Lunsumio	Roche / Genentech	2022 / 2022	CD20 / CD3 (Т-клітинний активатор) / Фолікулярна лімфома / Людське (технологія – Knob-in-Hole)
Теклістамаб (Teclistamab)	Tecvayli	Janssen Biotech	2022 / 2022	BCMA / CD3 (Т-клітинний активатор) / Множинна міелома / Людське (Транс-генні щурі OmniRat®)
Глофітамаб (Glofitamab)	Columvi	Roche / Genentech	2023 / 2023	CD20 / CD3 (Т-клітинний активатор) / Дифузна В-великоклітинна лімфома / Людське (технологія – CrossMab Формат 2:1 для легких ланцюгів)
Епкоритамаб (Epcoritamab)	Erkinly (США) / Terkinly (ЄС)	AbbVie / Genmab	2023 / 2023	CD20 / CD3 (Т-клітинний активатор) / Дифузна В-великоклітинна лімфома, фолікулярна лімфома / Гуманізоване (DuoBody® платформа)
Талкетамаб (Talquetamab)	Talvey	Janssen Biotech	2023 / 2023	GPRC5D / CD3 (Т-клітинний активатор) / Множинна міелома / Людське (Транс-генні щурі OmniRat®)
Елранатамаб (Elranatamab)	Elexfo	Pfizer	2023 / 2023	BCMA / CD3 (Т-клітинний активатор) / Множинна міелома / Людське (Фаговий дисплей)
Тарлатамаб (Tarlataamab)	Imdelltra	Amgen	2024 / -	DLL3 / CD3 (Т-клітинний активатор) / Рецидивувальний або метастатичний дрібноклітинний рак легень з прогресуванням під час або після хіміотерапії на основі платини / Людське (BiTE формат (трансгенні миші))
Одронекстамаб (Odronekstamab)	Ordspiono	Regeneron	2024 / очікується схвалення	CD20 / CD3 (Т-клітинний активатор) / Дифузна В-великоклітинна лімфома, фолікулярна лімфома / Людське (VelocImmune платформа)
Занідатамаб (Zanidatamab)	Zilhera	Zymeworks / Jazz Pharmaceuticals	2024 / очікується схвалення	HER2 / HER2 (Подвійний інгібітор сигнальних шляхів + ADCC) / Біліарний тракт рак (HER2+) / Людське (трансгенні миші; біпаратогне мкАТ – націлено на одну мішень HER2 у двох епітопах)
Зенокутузумаб (Zenocutuzumab)	Bizengri	Merus	2024 / очікується схвалення	HER2 / HER3 (Подвійний інгібітор сигнальних шляхів + ADCC) / NRG1-позитивні солідні пухлини (NSCLC, панкреатичний рак) / Людське (Viciotics® платформа)
Лінвоселтамаб (Linvoseltamab)	Lynozufic	Regeneron	2025 / 2025	BCMA / CD3 (Т-клітинний активатор) / Рецидивувальна множинна міелома / Людське (Трансгенні миші VelocImmune®)

Сучасний етап розвитку біотехнології bsAb характеризується переходом до створення складних мультиспецифічних платформ, зокрема ImmTAC (Immune mobilizing monoclonal TCRs Against Cancer), реалізована в препараті Тебентафусп (Tebentafusp, ТН Kimmtrak). На відміну від традиційних антитіл, які розпізнають лише поверхневі протеїни, тебентафусп використовує модифікований Т-клітинний рецептор (TCR) з надвисокою спорідненістю. Це дозволяє препарату ідентифікувати внутрішньоклітинні пухлинні антигени, представлені в комплексі з HLA на мембрані, що відкрило можливості для успішної терапії увеальної меланоми – захворювання, яке раніше вважалось резистентним до імунотерапії [47].

На окрему увагу заслуговує платформа DuoBody® (розробка Genmab), яка дозволяє генерувати біспецифічні молекули, що за структурою ідентичні природним людським IgG1. Це забезпечує їхню високу стабільність у системному кровотоці, дозволяючи перейти від безперервних інфузій до зручного підшкірного введення. Завдяки механізму контрольованого обміну Fab-фрагментами такі препарати, як Епкоритамаб (Epcoritamab, ТН Eprkinly (США) / Terkinly (ЄС)), поєднують у собі тривалий період напіввиведення класичних антитіл із потужною активністю імунної відповіді, що робить їх «золотим стандартом» сучасної біотехнологічної інженерії в онкології [48].

У контексті новітніх розробок слід виділити технологію HexaBody®, розроблену компанією «Genmab», яка полягає у модифікації Fc-домену МкАТ або bsAb для посилення гексамеризації (утворення гексамерів на поверхні клітини-мішені). Вона базується на введенні мутацій (наприклад, E345R) у CH2/CH3 інтерфейс Fc, що стабілізує олігомеризацію після зв'язування з антигеном. Це значно посилює комплемент-залежну цитотоксичність шляхом ефективної активації C1q комплексу, а також може покращувати антитілозалежну клітинну цитотоксичність [49, 50].

Технологія отримання іншої групи інноваційних МкАТ – кон'югованих (ADC) базується на прецизійному приєднанні високотоксичного цитостатика (пейлоаду, payload) до антитіла за допомогою стабільного лінкера. У цьому форматі антитіло виконує функцію вектора доставки хімічних речовин, що не можна вводити в кров у вільному вигляді, бо вони зруйнують здорові тканини. МкАТ розпізнає конкретний антиген на поверхні пухлинної клітини та зв'язується з ним, тобто забезпечує транспорт токсичної сполуки безпосередньо до пухлинного вогнища, вивільняючи її (зазвичай у лізосомах) лише після потрапляння комплексу всередину клітини [50].

Як цитостатичні речовини у складі ADC використовують: інгібітори мікротрубочок (наприклад, ММАЕ або DM1), які блокують мітоз шляхом порушення динаміки веретена поділу, що призводить до зупинки клітинного циклу та подальшої загибелі пухлинного елемента; агенти, що пошкоджують ДНК (зокрема каліхеаміцин або тезирин), які діють шляхом утворення розривів у подвійній спіралі ДНК

або формування стійких зшивок, що унеможлиблює реплікацію та транскрипцію генетичного матеріалу; інгібітори топоізомерази (наприклад, SN-38 або деррукстекан), які пригнічують активність ферментів, відповідальних за релаксацію надспіралізованої ДНК, що викликає накопичення необоротних структурних пошкоджень під час синтезу клітинних компонентів [51, 52].

Для ефективності та безпечності дії ADC важливе значення має лінкер, який повинен забезпечувати стабільність у системному кровотоці та ефективне розщеплення у лізосомах пухлинної клітини. Лінкери поділяють на розщеплювані (ферментативні – β-глюкуронідні, пептидні (валін-цитрулін Val-Cit, фенілаланін-лізин Phe-Lys); рН-чутливі – гідразони; відновлювальні – дисульфідні) та нерозщеплювані (тіоефірні (SMCC, сукцинімідил-4-(N-малеїмідометил)циклогексан-1-карбоксилат), триазольні). Розщеплювані лінкери можуть швидко розщеплюватися за певних біохімічних умов всередині клітин-мішеней, швидко вивільняючи препарат, досягаючи високих цитотоксичних концентрацій за короткий час, посилюючи інгібувальний ефект на клітини-мішені. Ці конструкції можуть використовувати відмінності між пухлинними та нормальними клітинами в рівнях ферментів, рН або окисно-відновних станах для досягнення високої селективності. Для структурно чутливих або нестабільних цитостатиків застосовують нерозщеплювані лінкери, які демонструють надзвичайно високу хімічну стабільність у плазмі та не легко руйнуються навіть усередині клітин, що значно знижує ризик вільного витоку препарату під час циркуляції, знижуючи токсичність поза цільовою ділянкою [52, 53].

Першим схваленим кон'югованим МкАТ став гемтузумаб озогаміцин (gemtuzumab ozogamicin, ТН Mylotarg). Препарат складається з гуманізованого антитіла проти антигена CD33, який експресується на поверхні клітин за гострої мієлоїдної лейкемії, та приєднаного до нього потужного цитостатика каліхеаміцину. Після зв'язування з рецептором CD33 комплекс через ендцитоз потрапляє в клітину, де каліхеаміцин вивільняється і спричиняє подвійні розриви ДНК, що призводить до загибелі ракової клітини [54]. Уперше препарат був схвалений FDA у 2000 році, у 2010 році відкликаний з ринку виробником через сумніви щодо безпеки та ефективності. Проте після додаткових досліджень із застосуванням нижчих доз та іншої схеми введення, у 2017 році він був повторно схвалений FDA (а у 2018 – ЕМА) [55]. На сьогодні на фармацевтичному ринку ЄС та США наявні 16 препаратів ADC, які суттєво розширили клінічні можливості та безпековий профіль терапії онкологічних захворювань (табл. 2). Досвід клінічного застосування схвалених ADC свідчить про високу ефективність використання різних типів лінкерних систем. Зокрема у препараті Брентуксимаб ведотин (Brentuximab vedotin, ТН Adcetris) задіяно пептидний лінкер Val-Cit, що піддається специфічному розщепленню лізосомальним катепсином В. Це забезпечує

селективне вивільнення цитотоксичного навантаження (ММАЕ) безпосередньо всередині клітин-мішеней, що суттєво підвищує терапевтичний індекс. Натомість трастузумаб емтанзин (trastuzumab emtansine, ТН Kadcyla) містить стабільний нерозщеплюваний тіоефірний лінкер (DM1-SMCC), який потребує повної лізосомальної деградації антитіла для вивільнення цитотоксичного компонента DM1. Такий підхід мінімізує системну токсичність та запобігає передчасному вивільненню токсину в кровотоці. Наведені приклади підтверджують, що стратегічний вибір між розщеплюваними та нерозщеплюваними лінкерами, з урахуванням фармакокінетичних властивостей цитотоксичного агента та біологічних характеристик пухлини, є визначальним фактором досягнення оптимального клінічного результату [52, 53].

Оптимізація виробництва обох типів молекул залишається значним технологічним викликом. Для bsAb важливим є врівноваження афінності обох плечей та запобігання помилковому спарюванню ланцюгів. Для кон'югатів ключовим аспектом є контроль співвідношення препарат/антитіло (DAR, Drug-to-Antibody Ratio) та стабільність лінкера в системному кровотоці.

Отже, аналіз сучасних технологій отримання МкАТ демонструє еволюцію від класичної гібридомної методи до інноваційних трансгенних платформ, таких як XenoMouse, HuMabMouse, VelocImmune та OmniAb, які забезпечують виробництво повністю людських антитіл з високою афінністю та низькою імуногенністю. Ці підходи не тільки оптимізують фармакокінетичні властивості препаратів, але й розширюють спектр їхнього застосування в онкології, аутоімунних захворюваннях та інфекційних патологіях. Упровадження bsAb та ADC у клінічну практику підкреслює потенціал для персоналізованої терапії, водночас актуальні виклики щодо стабільності молекул, підвищення безпечності для пацієнтів та оптимізації виробничих процесів визначають вектори подальших наукових досліджень.

Висновки та перспективи подальших досліджень. Проведений аналіз свідчить про значний

прогрес у галузі біотехнологічного виробництва моноклональних антитіл, що еволюціонувало від класичної гібридомної технології до інноваційних методів, таких як фаговий дисплей, ізоляція одиничних В-клітин та використання трансгенних тварин. Ці підходи дозволили перейти від мишачих і химерних конструкцій з високою імуногенністю та обмеженою ефективністю, до повністю людських МкАТ з оптимізованою афінністю, стабільністю та фармакокінетикою. Ключовими факторами успіху стала інтеграція гуманізації для мінімізації відповідей НАМА, НАСА, НАНА. Трансгенні платформи, зокрема XenoMouse, HuMabMouse, VelocImmune та OmniAb, забезпечили *in vivo* дозрівання антитіл з повним людським репертуаром, що привело до створення блокбастерів, таких як адалімумаб (фаговий дисплей), панітумумаб (XenoMouse) та ніволумаб (HuMabMouse). Інноваційні форми, зокрема біспецифічні та кон'юганті антитіла, розширили спектр застосування МкАТ, дозволяючи селективну активацію імунної відповіді або цільову доставку цитостатиків, з мінімізацією системної токсичності. Попри це виклики, пов'язані з імуногенністю та складністю виробництва, підкреслюють необхідність постійної оптимізації.

Перспективи подальших досліджень передбачають інтеграцію штучного інтелекту для прогнозування структури CDR та афінності, а також CRISPR/Cas9 для точного редагування геномів у трансгенних моделях, що дозволить розширити репертуар антитіл до важкодоступних антигенів. Подальше вивчення комбінованої терапії може подолати резистентність пухлин, тоді як розроблення біосимілярів сприятиме зниженню вартості лікування. Актуальним залишається аналіз довгострокової безпеки в реальній клінічній практиці, а також розширення застосування МкАТ за межами онкології, зокрема в нейродегенеративних та інфекційних захворюваннях, з акцентом на мультиспецифічні формати для комплексного імунного модулювання.

Конфлікт інтересів: відсутній.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Antibody Drugs Market Analysis and Future Trends. URL: <https://www.genscript.com/learning-center/antibody-drugs-market-analysis-and-future-trends.html> (Date of access: 15.01.2026).
2. Technological advancements in antibody-based therapeutics for treatment of diseases / R.-M. Lu et al. *J. Biomed. Sci.* 2025. Vol. 32(1). P. 98. DOI: 10.1186/s12929-025-01190-2.
3. Research Antibodies Market Size, Market Forecast and Outlook By FMI. URL: <https://www.futuremarketinsights.com/reports/research-antibodies-market> (Date of access: 15.01.2026).
4. Purple Book. Database of Licensed Biological Products. *U.S. Food and Drug Administration*. URL: <https://purplebooksearch.fda.gov/> (Date of access: 15.01.2026).
5. Medicines. *European Medicines Agency*. URL: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines> (Date of access: 15.01.2026).
6. Antibody therapeutics approved or in regulatory review in the EU or US. *The Antibody Society*. URL: <https://www.antibodysociety.org/resources/approved-antibodies/> (Date of access: 15.01.2026).
7. Immunoglobulins. *Medical Microbiology*. URL: <https://myplace.frontier.com/~dffix/medmicro/igs.htm> (Date of access: 15.01.2026).
8. Monoclonal Antibodies: Historical Perspective and Current Trends in Biological Drug Development / B. Madej et al. *Int. J. Mol. Sci.* 2025. Vol. 26(18). P. 8794. DOI: 10.3390/ijms26188794.
9. Mechanisms of Action and Limitations of Monoclonal Antibodies and Single Chain Fragment Variable (scFv) in the Treatment of Cancer / C. Rodríguez-Nava et al. *Biomedicines*. 2023. Vol. 11(6). P. 1610. URL: <https://www.mdpi.com/2227-9059/11/6/1610> (Date of access: 15.01.2026).

10. Mechanisms of therapeutic antibodies. About therapeutic antibodies. *Kyowa Kirin*. URL: https://www.kyowakirin.com/antibody/about_antibody/mechanism.html (Date of access: 15.01.2026).
11. Structure, Function, and Therapeutic Use of IgM Antibodies / B. A. Keyt et al. *Antibodies*. 2020. Vol. 9(4). P. 53. DOI: 10.3390/antib9040053.
12. Monoclonal antibodies for human use. *European Pharmacopoeia Online*. URL: <http://www.uspbpep.com/ep60/monoclonal%20antibodies%20for%20human%20use%2020231e.pdf> (Date of access: 15.01.2026).
13. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1984 - Press release. *The Nobel Prize*. URL: <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1984/press-release/> (Date of access: 15.01.2026).
14. Köhler G., Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*. 1975. Vol. 256(5517). P. 495–497. DOI: 10.1038/256495a0.
15. Hybridoma selection using HAT medium. *Molecular Devices*. URL: <https://www.moleculardevices.com/en/assets/tutorials-videos/reagents/hybridoma-selection-using-hat-medium> (Date of access: 15.01.2026).
16. Mitra S., Tomar P. C. Hybridoma technology; advancements, clinical significance, and future aspects. *J. Genet. Eng. Biotechnol.* 2021. Vol. 19(1). P. 159–171. DOI: 10.1186/s43141-021-00264-6.
17. Todd P. A., Brogden R. N. Muromonab CD3. A review of its pharmacology and therapeutic potential. *Drugs*. 1989. Vol. 37. P. 871–899. DOI: 10.2165/00003495-198937060-00004.
18. Liu J. K. H. The history of monoclonal antibody development – Progress, remaining challenges and future innovations. *Ann. Med. Surg.* 2014. Vol. 3(4). P. 113–116. DOI: 10.1016/j.amsu.2014.09.001.
19. Voge N. V., Alvarez E. Monoclonal Antibodies in Multiple Sclerosis: Present and Future. *Biomedicines*. 2019. Vol. 7(1). P. 20. DOI: 10.3390/biomedicines7010020.
20. ReoPro®. Abciximab. URL: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2019/103575s5318lbl.pdf (Date of access: 15.01.2026).
21. Oncology biosimilar case studies: rituximab biosimilars. *Pharmaceutical Technology*. URL: <https://www.pharmaceutical-technology.com/analyst-comment/oncology-biosimilar-rituximab/> (Date of access: 15.01.2026).
22. Державний реєстр лікарських засобів України : офіційний сайт. URL: <http://www.drlz.com.ua/ibp/ddsite.nsf/all/shlist?opendocument&sklad=%F0%E8%F2%F3%EA%F1%E8%EC%E0%E1> (дата звернення: 15.01.2026).
23. Kerry J. Antibody Humanization Strategies, Challenges, and Innovations. *Rapid Novor*. URL: <https://www.rapidnovor.com/antibody-humanization-strategies-challenges-innovations/> (Date of access: 15.01.2026).
24. Interleukin-2-receptor blockade with daclizumab to prevent acute rejection in renal transplantation. Daclizumab Triple Therapy Study Group / F. Vincenti et al. *N. Engl. J. Med.* 1998. Vol. 338(3). P. 161–165. DOI: 10.1056/NEJM199801153380304.
25. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2 / D. J. Slamon et al. *N. Engl. J. Med.* 2001. Vol. 344(11). P. 783–792. DOI: 10.1056/NEJM200103153441101.
26. Avastin® (bevacizumab). URL: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2014/125085s301lbl.pdf (Date of access: 15.01.2026).
27. Phage antibodies: filamentous phage displaying antibody variable domains / J. McCafferty et al. *Nature*. 1990. Vol. 348(6301). P. 552–554. DOI: 10.1038/348552a0.
28. Bain B., Brazil M. Adalimumab. *Nat. Rev. Drug. Discov.* 2003. Vol. 2(9). P. 693–694. DOI: 10.1038/nrd1182.
29. Single B Cell Antibody Technologies. *SinoBiological*. URL: <https://www.sinobiological.com/resource/antibody-technical/single-b-cell-technology> (Date of access: 15.01.2026).
30. Xevudy. sotrrovimab. *European Medicines Agency*. URL: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/xevudy> (Date of access: 15.01.2026).
31. From Xenomouse technology to panitumumab, the first fully human antibody product from transgenic mice / A. Jakobovits et al. *Nat. Biotechnol.* 2007. Vol. 25(10). P. 1134–1143. DOI: 10.1038/nbt1337.
32. Scott C. T. Mice with a human touch. *Nat. Biotechnol.* 2007. Vol. 25(10). P. 1075–1077. DOI: 10.1038/nbt1007-1075.
33. Foltz I. N., Gunasekaran K., King C. T. Discovery and bio-optimization of human antibody therapeutics using the Xenomouse – transgenic mouse platform. *Immunological Reviews*. 2016. Vol. 270(1). P. 51–64. DOI: 10.1111/imr.12409.
34. Integrative and Emerging Models in Antibody Research: A Comprehensive Review / J. R. Devasani et al. *Antib. Ther.* 2025. Vol. 8(4). P. 317–335. DOI: 10.1093/abt/tbaf018.
35. Fully Humanized Monoclonal Antibody Discovery Technology (Transgenic Mice). *DetaiBio*. URL: <http://www.detaibio.us/resources/fully-humanized-monoclonal-antibody.html> (Date of access: 15.01.2026).
36. One-step CRISPR/Cas9 method for the rapid generation of human antibody heavy chain knock-in mice / Y.-C. Lin et al. *The EMBO Journal*. 2018. Vol. 37(18). DOI: 10.15252/embj.201899243.
37. In Vivo engineering of transgenic mice for systemic human neutralizing antibody production against staphylococcal enterotoxin B / Zh. Jiang et al. *Front. Immunol.* 2025. Vol. 16. P. 1679421. DOI: 10.3389/fimmu.2025.1679421.
38. Therapeutic Antibody Discovery Company. *OmniAb*. URL: <https://www.omniab.com/> (Date of access: 15.01.2026).
39. Teclistamab is an active T cell–redirecting bispecific antibody against B-cell maturation antigen for multiple myeloma / K. Pillarisetti et al. *Blood. Adv.* 2020. Vol. 4(18). P. 4538–4549. DOI: 10.1182/bloodadvances.2020002393.
40. Teclistamab in Relapsed or Refractory Multiple Myeloma / Ph. Moreau et al. *N. Engl. J. Med.* 2022. Vol. 387(6). P. 495–505. DOI: 10.1056/NEJMoa2203478.
41. A review of bispecific antibodies and antibody constructs in oncology and clinical challenges / F. Suurs et al. *Pharmacol. Ther.* 2019. Vol. 201. P. 103–119. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2019.04.006.
42. Shim H. Bispecific Antibodies and antibody–drug conjugates for cancer therapy: Technological considerations. *Biomolecules*. 2020. Vol. 10(3) P. 360. DOI: 10.3390/biom10030360.
43. Removab. *European Medicines Agency*. URL: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/removab> (Date of access: 15.01.2026).

44. Immune-mediated liver injury of the cancer therapeutic antibody catumaxomab targeting EpCAM, CD3 and Fcγ receptors / J. Borlak et al. *Oncotarget*. 2016. Vol. 7(19). P. 28059–28074. DOI: 10.18632/oncotarget.8574.
45. Mechanism of Action and Pharmacokinetics of Approved Bispecific Antibodies / S. M. Choi et al. *Biomol. Ther. (Seoul)*. 2024. Vol. 32(6). P. 708–722. DOI: 10.4062/biomolther.2024.146.
46. BLINCYTO® (blinatumomab). FDA label. URL: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2024/125557Orig1s028Correctedlbl.pdf (Date of access: 15.01.2026).
47. Tebentafusp in Metastatic Uveal Melanoma: A Meta-analysis / E. F. Saldanha et al. *Target Oncol*. 2026. Vol. 21(1). P. 37–47. DOI: 10.1007/s11523-025-01187-9.
48. Antibody Technology Platforms. *Genmab*. URL: <https://www.genmab.com/antibody-science/antibody-technology-platforms> (Date of access: 15.01.2026).
49. A Novel Platform for the Potentiation of Therapeutic Antibodies Based on Antigen-Dependent Formation of IgG Hexamers at the Cell Surface / R. N. de Jong et al. *PLoS Biology*. 2016. Vol. 14(1). P. e1002344. DOI: 10.1371/journal.pbio.1002344.
50. Antibody-Drug Conjugates-Evolution and Perspectives / A. A. Chis et al. *Int. J. Mol. Sci*. 2024. Vol. 25(13). P. 6969. DOI: 10.3390/ijms25136969.
51. Exploration of the antibody-drug conjugate clinical landscape / H. Maecker et al. *MAbs*. 2023. Vol. 15(1). P. 2229101. DOI: 10.1080/19420862.2023.2229101.
52. Pettinato M. C. Introduction to Antibody-Drug Conjugates. *Antibodies (Basel)*. 2021. Vol. 10(4). P. 42. DOI: 10.3390/antib10040042.
53. What Are ADC Linkers: Difference Between Cleavable and Non-Cleavable? *BOC Sciences. ADC technology*. URL: <https://adc.bocsci.com/resource/what-are-adc-linkers-difference-between-cleavable-and-non-cleavable.html> (Date of access: 15.01.2026).
54. Yu B., Liu D. Gemtuzumab ozogamicin and novel antibody-drug conjugates in clinical trials for acute myeloid leukemia. *Biomark Res*. 2019. Vol. 7. P. 24. DOI: 10.1186/s40364-019-0175-x.
55. Pfizer Receives FDA Approval for MYLOTARG™ (gemtuzumab ozogamicin). *Pfizer*. URL: https://www.pfizer.com/news/press-release/press-release-detail/pfizer_receives_fda_approval_for_mylotarg_gemtuzumab_ozogamicin (Date of access: 15.01.2026).
56. Pizzolato J. FDA approved bispecific antibodies. *Evitria*. URL: <https://www.evitria.com/journal/bispecific-antibodies/fda-approved-bispecific-antibodies/> (Date of access: 15.01.2026).

REFERENCES

1. *Antibody Drugs Market Analysis and Future Trends*. (2025, April 29). <https://www.genscript.com/learning-center/antibody-drugs-market-analysis-and-future-trends.html>
2. Lu, R.-M., Chiang, H.-L., Yuan, J. P.-Y., Wang, H.-H., Chen, C.-Y., Panda, S. S., Liang, K.-H., Peng, H.-P., Ko, S.-H., Hsu, H.-J., Kumari, M., Su, Y.-J., Tse, Y.-T., Chou, N.-L., & Wu, H.-C. (2025). Technological advancements in antibody-based therapeutics for treatment of diseases. *J. Biomed. Sci*, 32(1), 98. <http://doi.org/10.1186/s12929-025-01190-2>
3. *Research Antibodies Market Size, Market Forecast and Outlook By FMI*. <https://www.futuremarketinsights.com/reports/research-antibodies-market>
4. *Purple Book. Database of Licensed Biological Products*. U.S. Food and Drug Administration. <https://purplebooksearch.fda.gov/>
5. *Medicines*. European Medicines Agency. <https://www.ema.europa.eu/en/medicines>
6. *Antibody therapeutics approved or in regulatory review in the EU or US*. The Antibody Society. <https://www.antibodysociety.org/resources/approved-antibodies/>
7. *Immunoglobulins. Medical Microbiology*. <https://myplace.frontier.com/~dffix/medmicro/igs.htm>
8. Madej, B., Tomaszewski, F., Szmajda-Krygier, D., Świechowski, R., Jeleń, A., & Mirowski, M. (2025). Monoclonal Antibodies: Historical Perspective and Current Trends in Biological Drug Development. *Int. J. Mol. Sci*, 26(18), 8794. <http://doi.org/10.3390/ijms26188794>
9. Rodríguez-Nava, C., Ortuño-Pineda, C., Illades-Aguir, B., Flores-Alfaro, E., Leyva-Vázquez, M. A., Parra-Rojas, I., del Moral-Hernández, O., Vences-Velázquez, A., Cortés-Sarabia, K., & del Carmen Alarcón-Romero, L. (2023). Mechanisms of Action and Limitations of Monoclonal Antibodies and Single Chain Fragment Variable (scFv) in the Treatment of Cancer. *Biomedicines*, 11(6), 1610. <https://www.mdpi.com/2227-9059/11/6/1610>
10. *Mechanisms of therapeutic antibodies. About therapeutic antibodies*. Kyowa Kirin. https://www.kyowakirin.com/antibody/about_antibody/mechanism.html
11. Keyt, B. A., Baliga, R., Sinclair, A. M., Carroll, S. F., & Peterson, M. S. (2020). Structure, Function, and Therapeutic Use of IgM Antibodies. *Antibodies*, 9(4), 53. <http://doi.org/10.3390/antib9040053>
12. *Monoclonal antibodies for human use*. European Pharmacopoeia Online. <http://www.uspbpep.com/ep60/monoclonal%20antibodies%20for%20human%20use%2020231e.pdf>
13. *The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1984 - Press release*. The Nobel Prize. <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1984/press-release/>
14. Köhler, G., & Milstein, C. (1975). Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*, 256(5517), 495–497. <http://doi.org/10.1038/256495a0>
15. *Hybridoma selection using HAT medium*. Molecular Devices. <https://www.moleculardevices.com/en/assets/tutorials-videos/reagents/hybridoma-selection-using-hat-medium>
16. Mitra, S., & Tomar, P. C. (2021). Hybridoma technology; advancements, clinical significance, and future aspects. *J. Genet. Eng. Biotechnol.*, 19(1), 159–171. <http://doi.org/10.1186/s43141-021-00264-6>
17. Todd, P. A., & Brogden, R. N. (1989). Muromonab CD3. A review of its pharmacology and therapeutic potential. *Drugs*, 37, 871–899. <http://doi.org/10.2165/00003495-198937060-00004>
18. Liu, J. K. H. (2014). The history of monoclonal antibody development – Progress, remaining challenges and future innovations. *Ann. Med. Surg.*, 3(4), 113–116. <http://doi.org/10.1016/j.amsu.2014.09.001>

19. Voge, N. V., & Alvarez, E. (2019). Monoclonal Antibodies in Multiple Sclerosis: Present and Future. *Biomedicines*, 7(1), 20. <http://doi.org/10.3390/biomedicines7010020>
20. *ReoPro®. Abciximab*. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2019/103575s5318lbl.pdf
21. *Oncology biosimilar case studies: rituximab biosimilars*. (2023, May 19). Pharmaceutical Technology. <https://www.pharmaceutical-technology.com/analyst-comment/oncology-biosimilar-rituximab/>
22. *Derzhavnyi reiestr likarskykh zasobiv Ukrainy*: ofitsiyni sait. <http://www.drlz.com.ua/ibp/ddsite.nsf/all/shlist?opendocument&sklad=%F0%E8%F2%F3%EA%F1%E8%EC%E0%E1>
23. Kerry, J. (2024, November 6). *Antibody Humanization Strategies, Challenges, and Innovations*. Rapid Novor. <https://www.rapidnovor.com/antibody-humanization-strategies-challenges-innovations/>
24. Vincenti, F., Kirkman, R., Light, S., Bumgardner, G., Pescovitz, M., Halloran, P., Neylan, J., Wilkinson, A., Ekberg, H., Gaston, R., Backman, L., & Burdick, J. (1998). Interleukin-2-receptor blockade with daclizumab to prevent acute rejection in renal transplantation. Daclizumab Triple Therapy Study Group. *N. Engl. J. Med.*, 338(3), 161–165. <http://doi.org/10.1056/NEJM199801153380304>
25. Slamon, D. J., Leyland-Jones, B., Shak, S., Fuchs, H., Paton, V., Bajamonde, A., Fleming, T., Eiermann, W., Wolter, J., Pegram, M., Baselga, J., & Norton, L. (2001). Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N. Engl. J. Med.*, 344(11), 783–792. <http://doi.org/10.1056/NEJM200103153441101>
26. *Avastin® (bevacizumab)*. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2014/125085s301lbl.pdf
27. McCafferty, J., Griffiths, A. D., Winter, G., & Chiswell, D. J. (1990). Phage antibodies: filamentous phage displaying antibody variable domains. *Nature*, 348(6301), 552–554. <http://doi.org/10.1038/348552a0>
28. Bain, B., & Brazil, M. (2003). Adalimumab. *Nat. Rev. Drug. Discov.*, 2(9), 693–694. <http://doi.org/10.1038/nrd1182>
29. *Single B Cell Antibody Technologies*. SinoBiological. <https://www.sinobiological.com/resource/antibody-technical/single-b-cell-technology>
30. *Xevudy. sotrovimab*. European Medicines Agency. <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/xevudy>
31. Jakobovits, A., Amado, R. G., Yang, X., Roskos, L., & Schwab, G. (2007). From Xenomouse technology to panitumumab, the first fully human antibody product from transgenic mice. *Nat. Biotechnol.*, 25(10), 1134–1143. <http://doi.org/10.1038/nbt1337>
32. Scott, C. T. (2007). Mice with a human touch. *Nat. Biotechnol.*, 25(10), 1075–1077. <http://doi.org/10.1038/nbt1007-1075>
33. Foltz, I. N., Gunasekaran, K., & King, C. T. (2016). Discovery and bio-optimization of human antibody therapeutics using the Xenomouse – transgenic mouse platform. *Immunological Reviews*, 270(1), 51–64. <http://doi.org/10.1111/imr.12409>
34. Devasani, J. R., Guntuku, G., Sarabu, P., Muthyala, M. K. K., Palla, M. S., & Volety, M. S. (2025). Integrative and Emerging Models in Antibody Research: A Comprehensive Review. *Antib. Ther.*, 8(4), 317–335. <http://doi.org/10.1093/abt/tbaf018>
35. *Fully Humanized Monoclonal Antibody Discovery Technology (Transgenic Mice)*. DetaiBio. <http://www.detaibio.us/resources/fully-humanized-mono-clonal-antibody.html>
36. Lin, Y.-C., Pecetta, S., Steichen, J. M., Kratochvil, S., Melzi, E., Arnold, J., Dougan, S. K., Wu, L., Kirsch, K. H., Nair, U., Schief, W. R., & Batista, F. D. (2018). One-step CRISPR/Cas9 method for the rapid generation of human antibody heavy chain knock-in mice. *The EMBO Journal*, 37(18), <http://doi.org/10.15252/embj.201899243>
37. Jiang, Z., Jia, B., Hu, N., Zhang, M., Xiao, H., Chen, G., Yu, J., Li, X., Shen, B., Feng, J., & Wang, J. (2025). In Vivo engineering of transgenic mice for systemic human neutralizing antibody production against staphylococcal enterotoxin B. *Front. Immunol.*, 16, 1679421. <http://doi.org/10.3389/fimmu.2025.1679421>
38. *Therapeutic Antibody Discovery Company*. OmniAb. <https://www.omniab.com/>
39. Pillarisetti, K., Powers, G., Luistro, L., Babich, A., Baldwin, E., Li, Y., Zhang, X., Mendonça, M., Majewski, N., Nanjunda, R., Chin, D., Packman, K., Elsayed, Y., Attar, R., & Gaudet, F. (2020). Teclistamab is an active T cell–redirecting bispecific antibody against B-cell maturation antigen for multiple myeloma. *Blood Adv.*, 4(18), 4538–4549. <http://doi.org/10.1182/bloodadvances.2020002393>
40. Moreau, P., Garfall, A. L., van de Donk, N. W. C. J., Nahi, H., San-Miguel, J. F., Oriol, A., Nooka, A. K., Martin, T., Rosinol, L., Chari, A., Karlin, L., Benboubker, L., Mateos, M.-V., Bahlis, N., Papat, R., Besemer, B., Martínez-López, J., Sidana, S., Delforge, M., . . . Usmani, S. Z. (2022). Teclistamab in Relapsed or Refractory Multiple Myeloma. *N. Engl. J. Med.*, 387(6), 495–505. <http://doi.org/10.1056/NEJMoa2203478>
41. Suurs, F. V., Lub-de Hooge, M. N., de Vries, E. G. E., & de Groot, D. J. A. (2019). A review of bispecific antibodies and antibody constructs in oncology and clinical challenges. *Pharmacol. Ther.*, 201, 103–119. <http://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2019.04.006>
42. Shim, H. (2020). Bispecific Antibodies and antibody–drug conjugates for cancer therapy: Technological considerations. *Biomolecules*, 10(3), 360. <http://doi.org/10.3390/biom10030360>
43. *Removab*. European Medicines agency. <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/removab>
44. Borlak, J., Länger, F., Spanel, R., Schöndorfer, G., & Dittrich, C. (2016). Immune-mediated liver injury of the cancer therapeutic antibody catumaxomab targeting EpCAM, CD3 and Fcγ receptors. *Oncotarget*, 7(19), 28059–28074. <http://doi.org/10.18632/oncotarget.8574>
45. Choi, S. M., Lee, J.-H., Ko, S., Hong, S.-S., & Jin, H.-E. (2024). Mechanism of Action and Pharmacokinetics of Approved Bispecific Antibodies. *Biomol. Ther. (Seoul)*, 32(6), 708–722. <http://doi.org/10.4062/biomolther.2024.146>
46. *BLINCYTO® (blinatumomab)*. *FDA label*. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2024/125557Orig1s028Correctedlbl.pdf
47. Saldanha, E. F., Noronha, M. M., Reis, P. C. A., Passos, P. R. C., Filho, V. O. C., Cappellaro, A. P., Almeida, L. F. C., Maselli-Shoueri, J. H., Lopes, C. D. H., Leite, L. F., Ribeiro, M. F., & Araujo, D. V. (2026). Tebentafusp in Metastatic Uveal Melanoma: A Meta-analysis. *Target Oncol.*, 21(1), 37–47. <http://doi.org/10.1007/s11523-025-01187-9>
48. *Antibody Technology Platforms*. Genmab. <https://www.genmab.com/antibody-science/antibody-technology-platforms>
49. de Jong, R. N., Beurskens, F. J., Verploegen, S., Strumane, K., van Kampen, M. D., Voorhorst, M., Horstman, W., Engelberts, P. J., Oost-indie, S. C., Wang, G., Heck, A. J. R., Schuurman, J., & Parren, P. W. H. I. (2016). A Novel Platform for the Potentiation of Therapeutic Antibodies Based on Antigen-Dependent Formation of IgG Hexamers at the Cell Surface. *PLOS Biology*, 14(1), e1002344. <http://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002344>

50. Chis, A. A., Dobrea, C. M., Arseniu, A. M., Frum, A., Rus, L.-L., Cormos, G., Georgescu, C., Morgovan, C., Butuca, A., Gligor, F. G., & Vonica-Tincu, A. L. (2024). Antibody-Drug Conjugates-Evolution and Perspectives. *Int. J. Mol. Sci.*, 25(13), 6969. <http://doi.org/10.3390/ijms25136969>
51. Maecker, H., Jonnalagadda, V., Bhakta, S., Jammalamadaka, V., & Junutula, J. R. (2023). Exploration of the antibody-drug conjugate clinical landscape. *MAbs*, 15(1), 2229101. <http://doi.org/10.1080/19420862.2023.2229101>
52. Pettinato, M. C. (2021). Introduction to Antibody-Drug Conjugates. *Antibodies (Basel)*, 10(4), 42. <http://doi.org/10.3390/antib10040042>
53. *What Are ADC Linkers: Difference Between Cleavable and Non-Cleavable?* BOC Sciences. ADC technology. <https://adc.bocsci.com/resource/what-are-adc-linkers-difference-between-cleavable-and-non-cleavable.html>
54. Yu, B., & Liu, D. (2019). Gemtuzumab ozogamicin and novel antibody-drug conjugates in clinical trials for acute myeloid leukemia. *Biomark Res*, 7, 24. <http://doi.org/10.1186/s40364-019-0175-x>
55. *Pfizer Receives FDA Approval for MYLOTARG™ (gemtuzumab ozogamicin)*. Pfizer. https://www.pfizer.com/news/press-release/press-release-detail/pfizer_receives_fda_approval_for_mylotarg_gemtuzumab_ozogamicin
56. Pizzolato, J. (2025, September 23). *FDA approved bispecific antibodies*. Evitria. <https://www.evitria.com/journal/bispecific-antibodies/fda-approved-bispecific-antibodies/>

Відомості про авторів:

О. С. Калюжная, кандидат фармацевтичних наук, доцент кафедри біотехнології, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: kalyuzhnayao.s@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8187-517X>

Н. В. Хохленкова, доктор фармацевтичних наук, професор, завідувачка кафедри біотехнології, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: hohnatal@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1676-7591>

Information about the authors:

O. S. Kaliuzhnaia, Candidate of Pharmacy (Ph.D.), Associate Professor of the Department of Biotechnology, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: kalyuzhnayao.s@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8187-517X>

N. V. Khokhlenkova, Doctor of Pharmacy (Dr. habil.), Professor, Head of the Department of Biotechnology, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: hohnatal@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1676-7591>

Дата першого надходження: 10.02.2026 р.

Дата прийняття до друку: 17.03.2026 р.

Дата публікації: 31.03.2026 р.