



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201713701 A

(43)公開日：中華民國 106 (2017) 年 04 月 16 日

(21)申請案號：105120097

(22)申請日：中華民國 105 (2016) 年 06 月 24 日

(51)Int. Cl. : C07K16/30 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

G01N33/574 (2006.01)

(30)優先權：2015/06/24 美國

62/184,185

(71)申請人：優瑞科生物技術公司 (美國) EUREKA THERAPEUTICS, INC. (US)

美國

(72)發明人：劉 誠 LIU, CHENG (US)；劉 宏 LIU, HONG (US)；許 奕陽 XU, YIYANG (US)；向 京宜 XIANG, JINGYI (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：29 項 圖式數：10 共 306 頁

(54)名稱

靶向 NY-ESO-1 肽/MHC 複合體之構築體及其用途

CONSTRUCTS TARGETING NY-ESO-1 PEPTIDE/MHC COMPLEXES AND USES THEREOF

(57)摘要

本申請案提供包含特异性結合於包含 NY-ESO-1 肽及 MHC I 類蛋白質之複合體之抗體部分的構築體。亦提供製造及使用此等構築體之方法。

The present application provides constructs comprising an antibody moiety that specifically binds to a complex comprising an NY-ESO-1 peptide and an MHC class I protein. Also provided are methods of making and using these constructs.

指定代表圖：

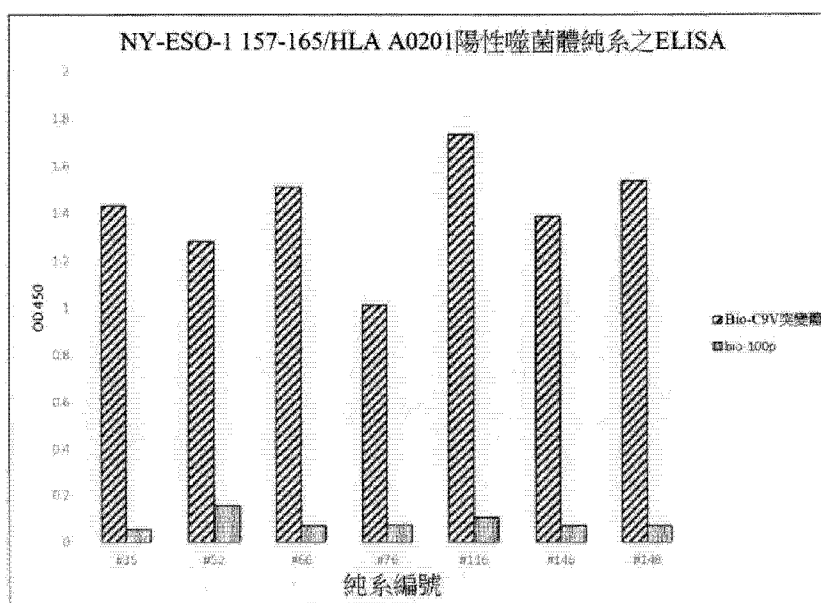


圖2

201713701

發明摘要

※ 申請案號：105120091

※ 申請日：105.6.24

※IPC 分類：C07K 16/30 (2006.01)
A61K 39/45 (2006.01)
G01N 33/54 (2006.01)

【發明名稱】

靶向NY-ESO-1肽/MHC複合體之構築體及其用途

CONSTRUCTS TARGETING NY-ESO-1 PEPTIDE/MHC

COMPLEXES AND USES THEREOF

【中文】

本申請案提供包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之抗體部分的構築體。亦提供製造及使用此等構築體之方法。

【英文】

The present application provides constructs comprising an antibody moiety that specifically binds to a complex comprising an NY-ESO-1 peptide and an MHC class I protein. Also provided are methods of making and using these constructs.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（2）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】

靶向NY-ESO-1肽/MHC複合體之構築體及其用途

CONSTRUCTS TARGETING NY-ESO-1 PEPTIDE/MHC
COMPLEXES AND USES THEREOF

相關申請案之交叉引用

本申請案主張2015年6月24日申請的美國臨時申請案第62/184,185號之優先權，其以全文引用的方式併入本文中。

【技術領域】

本發明係關於特異性結合與NY-ESO-1肽複合之MHC分子之抗體構築體，及其用途，包括治療及診斷疾病。

以ASCII正文檔案形式提交序列表

以ASCII正文檔案提交之以下內容以全文引用之方式併入本文中：電腦可讀形式(CRF)之序列表(檔案名稱：750042000441SEQLIST.txt，記錄日期：2016年6月23日，大小：65 KB)。

【先前技術】

細胞表面蛋白質僅構成細胞蛋白質的一小部分且此等蛋白質通常並非腫瘤特異性的。由於不能容易地穿透細胞，銷售的治療單株抗體(mAb)識別此等細胞表面蛋白質，其中的大部分為譜系或分化抗原(Milenic, E.D., *Curr. Pharm. Des.* 8:1794-1764, 2002; Grillo-Lopez, A.J., *Expert Rev. Anticancer Ther.* 2(3):323-329, 2002; Jones, K.L.及 Buzdat, A.U., *Lancet Oncol.* 10(12):1179-1187, 2009)。相比之下，突變或致癌腫瘤相關蛋白質通常為細胞核、細胞質或分泌的，其當前藉

由小分子藥物最佳解決，或在分泌蛋白質的情況下，作為抗癌藥物標靶幾乎不解決 (Reddy 等人, *Expert Opin. Ther. Targets* 3:313-324, 2012 ; Takeuchi, K.及 Ito, F., *Biol. Pharm. Bull.* 34(12):1774-1780 ; Roychowdhury, S.及 Talpaz, M., *Blood Rev.* 6:279-290, 2011)。然而，大部分胞內蛋白質由於藉由T細胞受體(TCR)識別之MHC分子的情況下之T細胞肽抗原決定基而可藉由細胞表面上之MHC分子變幻蟲降解、加工及呈遞 (Morris 等人, *Blood Rev.* 20:61-69, 2006 ; Konnig, R., *Curr. Opin. Immunol.* 14(1):75-83, 2002)。因此，產生在細胞表面上識別分泌或胞內腫瘤抗原衍生肽/MHC複合體之治療mAb將利用藉由mAb提供之經增強特異性及治療效能。使用噬菌體呈現來產生mAb之近來發展已使得可能選擇對於來自大抗體譜系之界定抗原決定基具有精緻特異性之藥劑。在HLA-A01及HLA-A02的情況下對實體腫瘤抗原具有特異性之多種此類mAb已成功地選自噬菌體呈現文庫 (Noy 等人, *Expert Rev. Anticancer Ther.* 5(3):523-536, 2005 ; Chames 等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:7969-7974, 2000 ; Held 等人, *Eur. J. Immunol.* 34:2919-2929, 2004 ; Lev 等人, *Cancer Res.* 62:3184-3194, 2002 ; Klechevsky 等人, *Cancer Res.* 68(15):6360-6367, 2008)。最近，已顯示對人類WT1/HLA-A02複合體具有特異性之人類mAb(充分描述之T細胞抗原決定基)經由Fc介導之效應細胞功能在細胞分析及活體內模型中抑制多種癌細胞株及原發癌細胞 (Dao 等人, *Sci. Transl. Med.* 5:176ra33, 2013 ; Veomett 等人, *Clin. Cancer Res.* doi: 10.1158/1078-0432, 2014)。

腫瘤相關抗原NY-ESO-1(18 kDa之180個胺基酸長度的蛋白質)首先藉由來自食道之鱗狀細胞癌之重組cDNA表現庫之血清分析 (SEREX)鑑別。其為癌症-睪丸(CT)抗原基因家族之成員且符合CT抗原之特徵。NY-ESO-1在胎兒發育期間表現於睪丸及卵巢兩者之生殖

細胞中。在成人中，NY-ESO-1表現限於睪丸中之精原細胞及初級精母細胞，且不存在於正常體細胞組織中。NY-ESO-1頻繁表現於寬範圍之腫瘤中，包括黑素瘤、神經母細胞瘤、滑膜肉瘤、乳癌、前列腺癌、肺癌、卵巢癌及膀胱癌。(Gjerstorff MF等人, *Hum. Reprod.* 22(4):953-60, 2007; Gnjatic S等人, *Adv. Cancer Res.* 95:1-30, 2006)。另一CT抗原LAGE-1在蛋白質含量中與NY-ESO-1約90%同源。LAGE-1表現於多種癌症中，有時連同NY-ESO-1。預測靶向NY-ESO-1及LAGE-1之同源區域之免疫療法針對相比於NY-ESO-1或LAGE-1特異性療法較寬範圍之癌症有效(Nicholaou T等人, *Immunol. Cell Biol.* 84(3):303-17, 2006)。

NY-ESO-1及LAGE-1之功能在很大程度上未知。有趣的是，不存在此兩種基因之已知嚙齒動物同源物，其進一步妨礙功能表徵。已知NY-ESO-1在攜有抗原表現腫瘤之患者中誘導顯著自發免疫原性。已在具有各種癌症類型之患者中報導抗-NY-ESO-1抗體反應，而可偵測抗NY-ESO-1抗體之臨床效應仍不明確。由於LAGE-1與NY-ESO-1之間的高序列同源性，血清學分析尚未總體上在表現兩種抗原之腫瘤中將其區分(Nicholaou T等人，見上文)。

NY-ESO-1之T細胞識別之第一證據來自患有轉移性黑素瘤之患者。藉由自體混合之淋巴細胞-腫瘤培養物獲得CD8陽性T細胞株。顯示此腫瘤反應性T細胞株識別與HLA-A*02:01之複合體中之NY-ESO-1之肽157-165 (ESO157)、157-167及155-163 (Jäger E等人, *J. Exp. Med.* 187(2):265-70, 1998)。此三個肽序列存在於NY-ESO-1及LAGE-1蛋白質兩者中。此後，已鑑別經HLA-A、HLA-B及HLA-C限制之一系列肽。同時，亦報導許多MHCII限制及NY-ESO-1衍生肽(Nicholaou T等人，見上文)。對於CD8及CD4 T細胞反應，許多抗原決定基在NY-ESO-1與LAGE-1之間展示為保守。

儘管已經由活體外抗原再刺激自抗原表現癌症患者分離識別各種NY-ESO-1衍生肽/HLA-A*02:01複合體之CD8陽性細胞毒性T細胞(CTL)，迄今為止僅針對157-165 SLLMWITQC抗原決定基(ESO157)發現能夠識別天然處理NY-ESO-1之CTL。鑑別自黑素瘤患者之ESO157/HLA-A*02:01特異性CTL能夠殺死肽脈衝之靶細胞以及自體腫瘤細胞(Valmori D等人, *Cancer Res.* 60(16):4499-506, 2000)。對ESO157/HLA-A*02:01複合體具有特異性之CD8+ CTL之過繼轉移在患有黑素瘤及滑膜肉瘤之患者中誘發臨床反應(Robbins PF等人, *Clin Cancer Res.* 21(5):1019-27, 2015)。A亦顯示包含對融合至抗CD3scFv抗體之ESO157/HLA-A*02:01複合體具有特異性之可溶、高親和力T細胞受體(TCR)的雙官能治療蛋白殺死HLA-A02陽性、抗原陽性腫瘤細胞株及新分離的HLA-A02及LAGE-1陽性，但NY-ESO-1陰性之肺腫瘤細胞(McCormack E等人, *Cancer Immunol. Immunother.* 62(4):773-85, 2013)。所有證據支持ESO157/HLA-A*02:01複合體呈遞於NY-ESO-1及/或LAGE-1陽性癌細胞上且為免疫療法之經證實腫瘤標靶。

使用噬菌體呈現來產生mAb之近來發展已使得可能選擇對於來自大抗體譜系之界定抗原決定基具有精緻特異性之藥劑。在HLA-A01及HLA-A02的情況下對實體腫瘤抗原具有特異性之多種此類mAb已成功地選自噬菌體呈現文庫(Noy等人, *Expert Rev. Anticancer Ther.* 5(3):523-536, 2005；Chames等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:7969-7974, 2000；Held等人, *Eur. J. Immunol.* 34:2919-2929, 2004；Lev等人, *Cancer Res.* 62:3184-3194, 2002；Klechevsky等人, *Cancer Res.* 68(15):6360-6367, 2008)。最近，已顯示對人類WT1/HLA-A02複合體具有特異性之人類mAb(充分描述之T細胞抗原決定基)經由Fc介導之效應細胞功能在細胞分析及活體內模型中抑制多種癌細胞株及原發癌細胞(Dao等人, *Sci. Transl. Med.* 5:176ra33, 2013；Veomett等人, *Clin.*

Cancer Res. doi: 10.1158/1078-0432, 2014)。

本文所提及之所有公開案、專利、專利申請案及公佈專利申請案之揭示內容特此以全文引用的方式併入本文中。

【發明內容】

在一態樣中，本申請案提供結合至包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體(在本文中稱為「NY-ESO-1/MHC I類複合體」或「EMC」)的構築體(如經分離構築體)。在一些實施例中，構築體(「抗EMC構築體」)包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗體部分(在本文中稱為「抗EMC抗體部分」)。

因此，在一些實施例中，提供包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之抗體部分的抗EMC構築體(如經分離抗EMC構築體)。在一些實施例中，NY-ESO-1/MHC複合體存在於細胞表面上。在一些實施例中，NY-ESO-1/MHC複合體存在於癌細胞表面上。

在一些實施例中，抗EMC構築體包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗體部分，其中MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A02。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A02對偶基因之HLA-A*02:01亞型。

在一些實施例中，根據上文所述之抗EMC構築體(如經分離抗EMC構築體)中的任一者，抗EMC構築體包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗體部分，其中抗體部分與包含NY-ESO-1肽及第二MHC I類蛋白質(具有與MHC I類蛋白質不同的HLA對偶基因)之複合體交叉反應。在一些實施例中，抗體部分與至少一種包含含一個胺基酸取代(如保守胺基酸取代)之NY-ESO-1肽變異體及MHC I類蛋白質之複合體交叉反應。

在一些實施例中，根據上文所述之抗EMC構築體(如經分離抗

EMC構築體)中的任一者，抗EMC構築體包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗體部分，其中NY-ESO-1肽長度為約8至約12(如約8、9、10、11或12中的任一者)個胺基酸。在一些實施例中，NY-ESO-1肽具有選自由SEQ ID NO: 3-14組成之群的胺基酸序列。在一些實施例中，NY-ESO-1肽具有胺基酸序列 SLLMWITQC (SEQ ID NO: 4)。

在一些實施例中，抗EMC構築體包含特異性結合於包含SEQ ID NO: 4之NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A*02:01)之複合體的抗體部分，其中抗體部分與以下者交叉反應：a)包含具有SEQ ID NO: 7或9之胺基酸序列的NY-ESO-1肽之變異體及MHC I類蛋白質之複合體中之每一者；b)包含具有SEQ ID NO: 7、10及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及MHC I類蛋白質之複合體中之每一者；c)包含具有SEQ ID NO: 7、9、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及MHC I類蛋白質之複合體中之每一者；d)包含具有SEQ ID NO: 7、9、10、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及MHC I類蛋白質之複合體中之每一者；e)包含具有SEQ ID NO: 7、9、10、12、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及MHC I類蛋白質之複合體中之每一者；或f)包含具有SEQ ID NO: 7、9、11、12、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及MHC I類蛋白質之複合體中之每一者。

在一些實施例中，抗EMC構築體包含特異性結合於包含SEQ ID NO: 4之NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗體部分，其中MHC I類蛋白質為HLA-A*02:01且抗體部分與以下者交叉反應：a)包含 NY-ESO-1 157-165 肽 (SEQ ID NO: 4) 及 HLA-A*02:02 及 HLA-A*02:06中的任一者之複合體中之每一者；b)包含NY-ESO-1 157-165 肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02、HLA-A*02:03及HLA-A*02:06中

的任一者之複合體中之每一者；c)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及 HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:05及 HLA-A*02:06中的任一者之複合體中之每一者；或d)包含NY-ESO-1 157-165 肽 (SEQ ID NO: 4)及 HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:05、HLA-A*02:06及HLA-A*02:11中的任一者之複合體中之每一者。

在一些實施例中，根據上文所述之抗EMC構築體(如經分離抗EMC構築體)中的任一者，抗EMC構築體包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗體部分，其中抗體部分為全長抗體、Fab、Fab'、(Fab')₂、Fv或單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，抗體部分為全人類抗體部分、具有人類抗體構架區半合成抗體部分或人類化抗體部分。

在一些實施例中，根據上文所述之抗EMC構築體(如經分離抗EMC構築體)中的任一者，抗EMC構築體包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗體部分，其中抗體部分結合至平衡解離常數(K_d)在約0.1 pM至約500 nM之間(如約0.1 pM、1.0 pM、10 pM、50 pM、100 pM、500 pM、1 nM、10 nM、50 nM、100 nM、或500 nM中的任一者，包括此等值之間的任何範圍)的NY-ESO-1/MHC I類複合體。在一些實施例中，經分離抗EMC構築體結合至 K_d 在約0.1 pM至約500 nM之間(如約0.1 pM、1.0 pM、10 pM、50 pM、100 pM、500 pM、1 nM、10 nM、50 nM、100 nM、或500 nM中的任一者，包括此等值之間的任何範圍)的NY-ESO-1/MHC I類複合體。

在一些實施例中，抗EMC構築體包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗體部分，其中抗體部分包含：i)重鏈可變域，其包含重鏈互補決定區(HC-CDR)1，包含胺基酸序列G-G/Y-T-F-S/T-S-Y-A/G (SEQ ID NO: 95)，或包含至多約3(如約1、2或3

中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；HC-CDR2，該HC-CDR2包含胺基酸序列I-I-P-I-F/L-G-T-A或I-S-A-X-X-G-X-T (SEQ ID NO: 96或97)，或包含至多約3(如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含胺基酸序列A-R-Y-X-X-Y (SEQ ID NO: 98)，或包含至多約3(如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域，其包含輕鏈互補決定區(LC-CDR)1，包含胺基酸序列S-S-N-I-G-A/N-G/N-Y (SEQ ID NO: 74)，或包含至多約3(如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含胺基酸序列G/Q-S/T-W/Y-D-S/T-S-L-S/T-A/G-W/Y-V (SEQ ID NO: 100)，或包含至多約3(如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，其中X可為任何胺基酸。

在一些實施例中，抗EMC構築體包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗體部分，其中該抗體部分包含：i)重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，或包含至多約3(如約

1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體。

在一些實施例中，抗EMC構築體包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗體部分，其中抗體部分包含：i)重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)；或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個HC-CDR區中之胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)；或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個LC-CDR區中之胺基酸取代之其變異體。

在一些實施例中，抗EMC構築體包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗體部分，其中抗體部分包含a)重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 16-34中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，或與SEQ ID NO: 16-34中的任一者具有至少約95%(如至少約95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體；及b)輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 21-27中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，或與SEQ ID NO:

36-50中的任一者具有至少約95%(如至少約95%、96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體。在一些實施例中，抗體部分包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 16-34中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 36-50中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)。

在一些實施例中，抗EMC構築體包含與根據上文所述之抗體部分中的任一者之第二抗體部分競爭結合至靶NY-ESO-1/MHC I類複合體之第一抗體部分。在一些實施例中，第一抗體部分與第二抗體部分結合至相同，或大體上相同的抗原決定基。在一些實施例中，第一抗體部分與靶NY-ESO-1/MHC I類複合體之結合抑制第二抗體部分與靶NY-ESO-1/MHC I類複合體之結合至少約70%(如至少約75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%中的任一者)，或反之亦然。在一些實施例中，第一抗體部分及第二抗體部分交叉競爭結合至靶NY-ESO-1/MHC I類複合體，即第一及第二抗體部分中之每一者彼此競爭結合至靶NY-ESO-1/MHC I類複合體。

在一些實施例中，根據上文所述之抗EMC構築體(如經分離抗EMC構築體)中的任一者，經分離抗EMC構築體為全長抗體。在一些實施例中，經分離抗EMC構築體為單特異性的。在一些實施例中，經分離抗EMC構築體為多特異性的。在一些實施例中，經分離抗EMC構築體為雙特異性的。在一些實施例中，經分離抗EMC分子為串聯scFv、雙功能抗體(Db)、單鏈雙功能抗體(scDb)、雙親和力再靶向(DART)抗體、雙可變域(DVD)抗體、杵-臼(KiH)抗體、塙鎖(DNL)抗體、化學交聯抗體、雜多聚體抗體或異結合物抗體。在一些實施例中，經分離抗EMC構築體為包含兩個藉由肽連接子連接之scFv的串聯scFv。在一些實施例中，肽連接子包含胺基酸序列GGGGS(且在一些實施例中由其組成)。

在一些實施例中，根據上文所述之抗EMC構築體(如經分離抗EMC構築體)中的任一者，抗EMC構築體包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗體部分，其中經分離抗EMC構築體進一步包含特異性結合於第二抗原之第二抗原結合部分。在一些實施例中，第二抗原結合部分為抗體部分。在一些實施例中，第二抗原為T細胞表面上之抗原。在一些實施例中，T細胞選自由以下組成之群：細胞毒性T細胞、輔助T細胞及自然殺手T細胞。在一些實施例中，第二抗原選自由以下組成之群：CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD28、OX40、GITR、CD137、CD27、CD40L及HVEM。在一些實施例中，第二抗原為CD3 ϵ ，且經分離抗EMC構築體為包含對NY-ESO-1/MHC I類複合體具有特異性之N端scFv及對CD3 ϵ 具有特異性之C端scFv之串聯scFv。在一些實施例中，第二抗原為自然殺手細胞、中性粒細胞、單核細胞、巨噬細胞或樹突狀細胞表面上之抗原。

在一些實施例中，根據上文所述之抗EMC構築體(如經分離抗EMC構築體)中的任一者，抗EMC構築體包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗體部分，其中經分離抗EMC構築體為嵌合抗原受體(CAR)。在一些實施例中，嵌合抗原受體包含含抗體部分之細胞外域、跨膜域及胞內信號傳導域。在一些實施例中，胞內信號傳導域包含CD3 ζ 胞內信號傳導序列及共刺激信號傳導序列。在一些實施例中，共刺激信號傳導序列為CD28胞內信號傳導序列。

在一些實施例中，根據上文所述之抗EMC構築體(如經分離抗EMC構築體)中的任一者，抗EMC構築體包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗體部分，其中經分離抗EMC構築體為包含抗體部分及效應分子之免疫結合物。在一些實施例中，效應分子為選自由以下組成之群的治療劑：藥物、毒素、放射性同位

素、蛋白質、肽及核酸。在一些實施例中，治療劑為藥物或毒素。在一些實施例中，效應分子為標記。

在其他實施例中，提供包含根據上文所述之實施例中之任一者之抗EMC構築體(如經分離抗EMC構築體)的醫藥組合物。在一些實施例中，醫藥組合物進一步包含與抗EMC構築體相關之細胞(如效應細胞)。在一些實施例中，提供表現抗EMC構築體或其多肽組分或與其相關之宿主細胞。在一些實施例中，提供編碼抗EMC構築體或其多肽組分之核酸。在一些實施例中，提供包含核酸之載體。在一些實施例中，提供表現抗EMC構築體或與其相關之效應細胞。在一些實施例中，效應細胞為T細胞。

在一些實施例中，提供偵測在表面上呈遞包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之細胞的方法，其包含使細胞與根據上文所述之實施例中之任一者之抗EMC構築體(如經分離抗EMC構築體)接觸，該抗EMC構築體包含a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗體部分，及b)標記，及偵測細胞上之標記之存在。

在一些實施例中，提供治療患有NY-ESO-1陽性疾病之個體的方法，其包含向個體投與有效量的包含根據上文所述之實施例中之任一者之抗EMC構築體(如經分離抗EMC構築體)的醫藥組合物。在一些實施例中，醫藥組合物進一步包含與抗EMC構築體相關之細胞(如效應細胞)。在一些實施例中，提供治療患有NY-ESO-1陽性疾病之個體的方法，其包含向個體投與有效量的表現上文所述之抗EMC CAR中的任一者之效應細胞。在一些實施例中，效應細胞為T細胞。在一些實施例中，NY-ESO-1陽性疾病為癌症。在一些實施例中，癌症為膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、非小細胞肺癌(NSCLC)、卵巢癌、前列腺

癌、肉瘤或甲狀腺癌。

在一些實施例中，提供診斷患有NY-ESO-1陽性疾病之個體之方法，其包含：a)向個體投與有效量的根據上文所述之實施例中之任一者之經分離抗EMC構築體；及b)測定個體中之標記的含量，其中標記之含量高於臨限值含量指示個體患有-ESO-1陽性疾病。在一些實施例中，提供診斷患有NY-ESO-1陽性疾病之個體之方法，其包含：a)使來源於個體之樣品與根據上文所述之實施例中之任一者之經分離抗EMC構築體接觸；及b)測定與樣品中之經分離抗EMC構築體結合之細胞之數量，其中與經分離抗EMC構築體結合之細胞之數量值高於臨限值含量指示個體患有NY-ESO-1陽性疾病。在一些實施例中，NY-ESO-1陽性疾病為癌症。在一些實施例中，癌症為膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、非小細胞肺癌(NSCLC)、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌。

亦提供製造本文所述之構築體中的任一者之方法、適合於本文所描述之方法之製品及套組。

【圖式簡單說明】

圖1顯示藉由超過濃縮之後的NY-ESO-1 157-165 肽/HLA-A*02:01複合體之尺寸排外層析法(SEC)層析圖。恰當摺疊之肽/MHC複合體單體：212 mL；錯誤摺疊聚集體：111 mL；游離β2M：267 mL。

圖2顯示生物素標記之NY-ESO-1 157-165 C9V肽/HLA-A*02:01相對於生物素標記之對照肽混合物(100p)/HLA-A*02:01之特異性結合的噬菌體純系ELISA之結果。

圖3顯示NY-ESO-1 157-165野生型或C9V突變肽負載之T2細胞相對於對照肽混合物(p19)負載之T2細胞之結合的噬菌體純系FACS結合

分析之結果。1：僅細胞之陰性對照；2：p19對照肽混合物負載之T2細胞；3：NY-ESO-1 157-165肽負載之T2細胞；4：NY-ESO-1 157-165 C9V突變肽負載之T2細胞。

圖4顯示NY-ESO-1 157-165 C9V突變肽負載之T2細胞相對於對照肽混合物(100p)負載之T2細胞之結合的噬菌體純系#35 FACS結合分析之結果。

圖5顯示測定抗NY-ESO-1 157-165/HLA-A*02:01雙特異性抗體之純度的SDS-PAGE分析。

圖6顯示藉由製備自1 $\mu\text{g/ml}$ 、0.2 $\mu\text{g/ml}$ 、0.04 $\mu\text{g/ml}$ 及0.008 $\mu\text{g/ml}$ 抗體濃度下之各種噬菌體純系之抗NY-ESO-1 157-165/HLA-A*02:01雙特異性抗體介導之癌細胞株的T細胞殺死。測試HLA-A*02:01及NY-ESO-1陽性細胞株IM9及U266，及陰性對照細胞株Colo205 (HLA-A*02:01陽性但NY-ESO-1陰性)。

圖7顯示嵌合抗原受體構築體之示意性圖示。

圖8顯示對於HLA-A*02:01呈陽性，且對於NY-ESO-1呈陽性或陰性，藉由表現具有親和力成熟(4-1BB CAR型式)或親代(CD28 CAR型式) scFv之抗ESO157/HLA-A*02:01 CAR之T細胞介導之癌細胞株殺死。模擬轉導細胞包括為對照。

圖9顯示對於HLA-A*02:01呈陽性且對於NY-ESO-1呈陽性或陰性，藉由表現具有親和力成熟或親代scFv (全部呈4-1BB CAR型式)之抗ESO157/HLA-A*02:01 CAR之T細胞介導之癌細胞株殺死。

圖10顯示對於HLA-A*02:01呈陽性且對於NY-ESO-1呈陽性或陰性，藉由表現具有親和力成熟或親代scFv (全部呈CD28 CAR型式)之抗ESO157/HLA-A*02:01 CAR之T細胞介導之癌細胞株殺死。模擬轉導細胞包括為對照。

【實施方式】

本申請案提供包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體(在本文中稱為「NY-ESO-1/MHC I類複合體」或「EMC」)之抗體部分(在本文中稱為「抗EMC抗體部分」)的經分離構築體(在本文中稱為「抗EMC構築體」)。抗EMC構築體特異性識別NY-ESO-1/MHC I類複合體，如表現NY-ESO-1之細胞表面上之MHC呈遞之NY-ESO-1肽。抗EMC構築體可特異性結合於複合體中之NY-ESO-1肽之C端部分或中間部分，及/或與至少一種包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之不同亞型之複合體交叉反應(例如抗EMC構築體結合至NY-ESO-1肽/HLA-A*02:01複合體以及NY-ESO-1肽/HLA-A*02:02複合體)。當以抗CD3雙特異性抗體形式武裝或存在於由T細胞表現之嵌合抗原受體(CAR)中時，抗EMC抗體部分特異性再導引人類T細胞以殺死EMC呈遞靶細胞，如EMC呈遞癌細胞。此策略提供優於使用針對NY-ESO-1蛋白質之抗體的顯著技術優勢，使用該等抗體無法特異性靶向EMC呈遞細胞(亦即在表面上呈遞結合至MHC I類分子之NY-ESO-1肽的細胞)。此外，當融合至可偵測部分時，抗EMC抗體部分允許以對於EMC呈遞細胞之數目及分佈變化(比循環NY-ESO-1含量潛在更相關之疾病進展量度)之高靈敏度對NY-ESO-1陽性疾病或病症進行診斷及預後。

使用噬菌體呈遞技術，吾人產生多種針對NY-ESO-1 157-165肽/HLA-A*02:01複合體具特異性及高親和力之單株抗體。流動式細胞測量術及T細胞介導之細胞毒性分析展示抗體以NY-ESO-1及HLA-A*02:01受限方式識別NY-ESO-1肽脈衝之T2細胞。當以抗CD3雙特異性抗體形式武裝時，抗體重定向人類T細胞以殺死NY-ESO-1陽性及HLA-A*02:01陽性靶細胞。本文中呈現之資料展示HLA複合體的情形下之針對分NY-ESO-1肽之抗體可為癌症適應症(如實體腫瘤適應症)的有效治療劑。

本申請案因此提供包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之抗體部分的構築體(如經分離構築體)。構築體可例如為全長抗EMC抗體、多特異性抗EMC分子(如雙特異性抗EMC抗體)、抗EMC嵌合抗原受體(「CAR」)或抗EMC免疫結合物。

在另一態樣中，提供編碼抗EMC構築體或構築體之抗EMC抗體部分部分之核酸。

在另一態樣中，提供包含抗EMC構築體之組合物，該構築體包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗體部分。組合物可為包含抗EMC構築體或表現抗EMC構築體或與其相關之效應細胞(例如表現抗EMC CAR之T細胞)的醫藥組合物。

亦提供出於治療或診斷目的製造及使用抗EMC構築體(或表現抗EMC構築體或與其相關之細胞)之方法，以及適用於此類方法之套組及製品。

定義

如本文所用，「治療(treatment/treating)」為用於獲得有益或期望結果(包括臨床結果)之方法。出於本發明的目的，有益或期望臨床結果包括(但不限於)以下中的一或多者：緩解一或多種產生於疾病之症狀、降低疾病程度、使疾病穩定化(例如預防或延遲疾病惡化)、預防或延遲疾病擴散(例如轉移)、預防或延遲疾病復發、延遲或減緩疾病進展、改善疾病病況、提供疾病緩解(部分或完全)、減少治療疾病所需的一或多種其他藥物之劑量、延遲疾病進展、增加或改善生活品質、增加體重增長及/或延長存活期。「治療」亦涵蓋癌症之病理性結果(諸如腫瘤體積)降低。本發明之方法涵蓋此等治療態樣中之任何一或多者。

術語「復發(recurrence/relapse/relapsed)」係指癌症或疾病在疾病消失之臨床評估之後的恢復。遠端癌轉移或局部復發之診斷可視為復

發。

術語「難治性」或「耐受性」係指不回應於治療之癌症或疾病。

如關於T細胞在本文所用之「活化」係指已經充分刺激而誘導可偵測細胞增殖之T細胞狀態。活化亦可與誘導之細胞激素產生及可偵測效應功能相關聯。

術語「抗體部分」包括全長抗體及其抗原結合片段。全長抗體包含兩個重鏈及兩個輕鏈。輕鏈及重鏈之可變區對抗原結合負責。兩種鏈中之可變區一般均含有三個稱作互補決定區(CDR)之高度可變環(輕鏈(LC)CDR包括LC-CDR1、LC-CDR2及LC-CDR3，重鏈(HC)CDR包括HC-CDR1、HC-CDR2及HC-CDR3)。本文所揭示之抗體及抗原結合片段之CDR邊界可藉由Kabat、Chothia或Al-Lazikani公約(Al-Lazikani 1997；Chothia 1985；Chothia 1987；Chothia 1989；Kabat 1987；Kabat 1991)界定或鑑別。重鏈或輕鏈之三個CDR插入於稱為構架區(FR)之側接伸長部之間，該等側接伸長部比CDR更高度保守且形成支撐高變環之架構。重鏈及輕鏈之恆定區不參與抗原結合，但展現各種效應功能。抗體基於其重鏈之恆定區胺基酸序列分配至各種類別。五種主要類別或同型之抗體為IgA、IgD、IgE、IgG及IgM，其特徵為分別存在 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 及 μ 重鏈。若干主要抗體類別分成子類，如IgG1 (γ 1重鏈)、IgG2(γ 2重鏈)、IgG3 (γ 3重鏈)、IgG4(γ 4重鏈)、IgA1 (α 1重鏈)或IgA2(α 2重鏈)。

如本文所用之術語「抗原結合片段」係指抗體片段，包括例如雙功能抗體、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv片段、二硫鍵穩定性Fv片段(dsFv)、(dsFv)₂、雙特異性dsFv (dsFv-dsFv')、二硫鍵穩定性雙功能抗體(ds雙功能抗體)、單鏈抗體分子(scFv)、scFv二聚體(二價雙功能抗體)、由包含一或多個CDR之抗體的一部分形成之多特異性抗體、

駱駝的單域抗體、奈米抗體、域抗體、二價域抗體、或結合至抗原但不包含完整抗體結構之任何其他抗體片段。抗原結合片段能夠結合至與親本抗體或親本抗體片段(例如親本scFv)所結合相同之抗原。在一些實施例中，抗原結合片段可包含接枝至來自一或多種不同人類抗體之構架區的來自特定人類抗體之一或多種CDR。

如本文所用，當第一抗體部分在等莫耳濃度之第一抗體部分存在下抑制第二抗體部分之靶EMC結合至少約50%(如至少約55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%中的任一者)時，第一抗體部分與第二抗體部分「競爭」結合至靶EMC，或反之亦然。基於抗體之交叉競爭而將其「裝箱」之高通量方法描述於PCT公開案第WO 03/48731號中。

如本文中所用，術語「特異性結合」或「對.....具有特異性」係指可量測及可再現相互作用，如標靶與抗體或抗體部分之間的結合，其在非均質分子(包括生物分子)群體存在下決定標靶之存在。舉例而言，特異性結合於標靶(其可為抗原決定基)之抗體或抗體部分為以相比於其結合至其他標靶較大之親和力、親合力、更容易及/或以較長持續時間結合此標靶之抗體或抗體部分。在一些實施例中，特異性結合於抗原之抗體或抗體部分以至少為其對於其他標靶之結合親和力約10倍的結合親和力與抗原(例如NY-ESO-1肽/MHC I類蛋白質複合體)之一或多種抗原決定子反應。

如本文所用之「經分離」抗EMC構築體係指(1)不與自然界中發現之蛋白質相關，(2)不含來自相同來源之其他蛋白質，(3)由來自不同物種之細胞表現，或(4)不存在於自然界中之抗EMC構築體。

如本文所用之術語「經分離核酸」欲意謂基因組、cDNA或合成來源或其某一組合之核酸，藉助於其來源，「經分離核酸」(1)不與「經分離核酸」發現於自然界中之所有或部分聚核苷酸相關聯，

(2)可操作地連接於自然界中不與其連接之聚核苷酸，或(3)在自然界中不作為較大序列之部分存在。

如本文所用，術語「CDR」或「互補決定區」欲意謂重鏈與輕鏈多肽之可變區內存在的非鄰接抗原組合位點。此等特定區域已由Kabat等人, J. Biol. Chem. 252:6609-6616 (1977)；Kabat等人，美國健康及人類服務部(U.S. Dept. of Health and Human Services), 「Sequences of proteins of immunological interest」 (1991)；Chothia等人, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)；及MacCallum等人, J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996)描述，其中定義包括胺基酸殘基相對於彼此比較時之重疊或亞群。儘管如此，使用任一定義來提及抗體或接枝抗體或其變體之CDR意欲屬於如本文所定義及使用之術語的範疇。包涵以上所引用參考文獻中之每一者所定義的CDR的胺基酸殘基如下闡述於表1中作為對比物。

表1：CDR定義

	Kabat ¹	Chothia ²	MacCallum ³
V _H CDR1	31-35	26-32	30-35
V _H CDR2	50-65	53-55	47-58
V _H CDR3	95-102	96-101	93-101
V _L CDR1	24-34	26-32	30-36
V _L CDR2	50-56	50-52	46-55
V _L CDR3	89-97	91-96	89-96

¹殘基編號遵循Kabat等人，前述之命名法

²殘基編號遵循Chothia等人，前述之命名法

³殘基編號遵循MacCallum等人，前述之命名法

術語「嵌合抗體」係指如下抗體：其中重鏈及/或輕鏈之一部分與衍生自特定物種或屬於特定抗體類別或子類別之抗體中的對應序列相同或同源，而鏈之其餘部分與衍生自另一物種或屬於另一抗體類別或子類別的抗體中的對應序列相同或同源；以及此類抗體的片段，只要其展現本發明之生物活性即可(參見美國專利第4,816,567號；及

Morrison等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855 (1984))。

關於抗體或抗體部分之術語「半合成」意指抗體或抗體部分具有一或多個天然存在之序列及一或多個非天然存在之(亦即合成)序列。

「Fv」為含有完整抗原識別及結合位點之最小抗體片段。此片段由緊密、非共價締合之一個重鏈可變區域及一個輕鏈可變區域之二聚體組成。自此兩個域之摺疊發出六個高變環(各來自重鏈及輕鏈之3個環)，其促進胺基酸殘基之抗原結合且向抗體賦予抗原結合特異性。然而，即使單一可變域(或僅包含三個特異性針對抗原之CDR之Fv之一半)能夠識別及結合抗原，但親和力比整個結合位點低。

「單鏈Fv」(亦縮寫為「sFv」或「scFv」)為包含連接至單一多肽鏈中之V_H及V_L抗體域的抗體片段。在一些實施例中，scFv多肽在V_H與V_L域之間進一步包含多肽連接體，其使得scFv能夠形成用於抗原結合的所需結構。關於scFv之綜述，參見Pluckthun, *THE PHARMACOLOGY OF MONOCLONAL ANTIBODIES*, 第113卷，Rosenburg及Moore編 Springer-Verlag, New York, 第269-315頁(1994)。

術語「雙功能抗體」係指小抗體片段，其藉由在V_H及V_L域之間構築通常具有短連接子(如約5至約10個殘基)之scFv片段(參見前述段落)，使得實現V域之鏈間而非鏈內配對，產生二價片段，即具有兩個抗原結合位點之片段而製備。雙特異性雙功能抗體為兩個「交叉」scFv片段之雜二聚體，其中兩個抗體之V_H及V_L域存在於不同多肽鏈上。雙功能抗體更充分描述於例如EP 404,097；WO 93/11161；及Hollinger等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:6444-6448 (1993)中。

非人類(例如啮齒動物)抗體之「人類化」形式為含有源自非人類抗體之最小序列之嵌合抗體。在極大程度上，人類化抗體為人類免疫

球蛋白(接受者抗體)，其中來自接受者的高變區(HVR)之殘基經來自諸如具有所需特異性、親和力及能力之小鼠、大鼠、家兔或非人類靈長類動物之非人類物種(供者抗體)的高變區之殘基置換。在一些情況下，人類免疫球蛋白之Fv構架區(FR)殘基置換為相應非人類殘基。此外，人類化抗體可包含在接受者抗體或供者抗體中未發現之殘基。進行此等修飾以進一步改進抗體效能。一般而言，人類化抗體將包含大體上全部至少一個且通常兩個可變域，其中全部或大體上全部高變環與非人類免疫球蛋白之彼等區域相對應且全部或大體上全部FR為人類免疫球蛋白序列之彼等區。人類化抗體視情況亦將包含免疫球蛋白恆定區(Fc)之至少一部分，通常，人類免疫球蛋白之恆定區的至少一部分。關於其他細節，參見Jones等人，*Nature* 321:522-525 (1986)；Riechmann等人，*Nature* 332:323-329 (1988)；及Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2:593-596 (1992)。

關於本文中鑑別之多肽及抗體序列的「胺基酸序列一致性百分比(%)」或「同源性」定義為在序列比對後，在考慮任何保守取代作為序列一致性之一部分的情況下，候選序列中與所比較多肽中胺基酸殘基一致的胺基酸殘基之百分比。出於測定胺基酸序列一致性百分比目的之比對可以此項技術中之技能範圍內的各種方式達成，例如使用公開可獲得之電腦軟體，如BLAST、BLAST-2、ALIGN、Megalign(DNASTAR)或MUSCLE軟體。熟習此項技術者可確定用於量測比對之適當參數，包括用於達成所比較序列之全長內之最大比對所需的任何演算法。然而，出於本文之目的，使用序列比較電腦程式MUSCLE產生胺基酸序列一致性%值(Edgar, R.C., *Nucleic Acids Research* 32(5):1792-1797, 2004；Edgar, R.C., *BMC Bioinformatics* 5(1):113, 2004)。

術語「Fc受體」或「FcR」用於描述結合至抗體之Fc區的受體。

在一些實施例中，本發明之FcR為結合IgG抗體(γ 受體)且包括Fc γ RI、Fc γ RRI及Fc γ RRII子類之受體(包括此等受體之對偶基因變體及交替剪接形式)的FcR。Fc γ RRI受體包括Fc γ RRIIA(「活化受體」)及Fc γ RRIIB(「抑制受體」)，兩者具有主要在其細胞質域方面不同的類似胺基酸序列。活化受體Fc γ RRIIA在其細胞質域中含有基於免疫受體酪胺酸之活化基元(ITAM)。抑制受體Fc γ RRIIB在其細胞質域中含有基於免疫受體酪胺酸之抑制基元(ITIM)(參見review M., Daëron, *Annu. Rev. Immunol.* 15:203-234 (1997))。該術語包括異型，如Fc γ RRIIA異型：Fc γ RRIIA-Phe158、Fc γ RRIIA-Val158、Fc γ RRIIA-R131及/或Fc γ RRIIA-H131。FcR綜述於Ravetch及Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-92 (1991)；Capel等人, *Immunomethods* 4:25-34 (1994)；及de Haas等人, *J. Lab. Clin. Med.* 126:330-41 (1995)中。其他FcR包括將來鑑別之FcR，由本文術語「FcR」涵蓋。該術語亦包括新生兒受體FcRn，其負責輸送母體IgG至胎兒(Guyer等人, *J. Immunol.* 117:587 (1976)及Kim等人, *J. Immunol.* 24:249 (1994))。

術語「FcRn」指新生兒Fc受體(FcRn)。FcRn結構上類似於主要組織相容性複合體(MHC)且由非共價結合於 β 2-微球蛋白之 α 鏈組成。新生兒Fc受體FcRn之多種功能評述於Ghetie及Ward (2000) *Annu. Rev. Immunol.* 18, 739-766中。FcRn在自母體向幼體被動傳遞免疫球蛋白IgG及血清IgG含量調節中起作用。FcRn可充當救助受體，其在細胞內與跨越細胞結合且輸送完整形式之經胞飲IgG，且將其自預設降解路徑挽救。

人類IgG Fc區之「CH1域」(亦稱為「H1」域之「C1」)通常自約胺基酸118延伸至約胺基酸215(EU編號系統)。

「鉸鏈區」通常定義為自人類IgG1之Glu216延伸至Pro230(Burton, *Molec. Immunol.* 22:161-206 (1985))。其他IgG同型之

鉸鏈區可以藉由將形成重鏈間S-S鍵之第一個及最後一個半胱胺酸殘基置放在相同位置而與IgG1序列對齊。

人類IgG Fc區之「CH2域」(亦稱為「H2」域之「C2」)通常自約胺基酸231延伸至約胺基酸340。CH2域獨特之處在於其不與另一域緊密配對。實際上，兩個N-連接分支鏈碳水化合物鏈插入於完整天然IgG分子之兩個CH2域之間。已推測碳水化合物可為域-域配對提供替代品且幫助CH2域穩定化。Burton, *Molec Immunol.* 22:161-206 (1985)。

「CH3域」(亦稱為「C2」或「H3」域)包含Fc區中之殘基C端至CH2域(亦即抗體序列之約胺基酸殘基341至C端，通常在IgG之胺基酸殘基446或447處)之拉伸。

「功能性Fc片段」具有天然序列Fc區之「效應功能」。例示性「效應功能」包括C1q結合；補體依賴性細胞毒性(CDC)；Fc受體結合；抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)；吞噬作用；下調細胞表面受體(例如B細胞受體；BCR)等。此類效應功能一般需要Fc區與結合域(例如抗體可變域)組合且可使用此項技術中已知之各種分析評估。

具有「經改變」FcR結合親和力或ADCC活性之變異體IgG Fc之抗體為相比於親本多肽或包含天然序列Fc區之多肽，具有增強或減弱之FcR結合活性(例如FcγR或FcRn)及/或ADCC活性之抗體。「展現」與FcR之「增加結合」之變異體Fc以相比於親本多肽或天然序列IgG Fc較高之親和力(例如較低表觀K_d或IC₅₀值)結合至少一個FcR。根據一些實施例，相比於親本多肽之結合提高為約3倍(如約5、10、25、50、60、100、150、200或至多500倍中的任一者，或約25%至1000%)結合提高。「展現」與FcR之「減少結合」之多肽變異體以相比於親本多肽較低之親和力(例如較高表觀K_d或較高IC₅₀值)結合至少一個FcR。相

比於親本多肽之結合減少可為約40%或大於40%之結合減少。

「抗體依賴性細胞介導之細胞毒性」或「ADCC」係指某種形式之細胞毒性，其中所分泌的Ig結合至存在於某些細胞毒性細胞(例如自然殺手(NK)細胞、嗜中性白血球及巨噬細胞)上之Fc受體(FcR)，使得此等細胞毒性效應細胞能夠特異性結合至攜帶抗原之靶細胞且隨後用細胞毒素殺死靶細胞。抗體「武裝」細胞毒性細胞且對於此類殺死為絕對需要的。用於介導ADCC之初級細胞NK細胞僅表現FcγRIII，而單核細胞表現FcγRI、FcγRII及FcγRIII。FcR在造血細胞上之表現概述於Ravetch及Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-92 (1991)第464頁之表3中。為了評估相關分子之ADCC活性，可進行活體外ADCC分析，諸如美國專利第5,500,362號或5,821,337號中描述之分析。適用於此類分析之效應細胞包括周邊血液單核細胞(PBMC)及天然殺手(NK)細胞。或者或另外，所關注的分子之ADCC活性可在活體內評估，例如在如揭示於Clynes等人 *PNAS (USA)* 95:652-656 (1998)中之動物模型中。

包含「展現增加之ADCC」或在人類效應細胞存在下比具有野生型IgG Fc之多肽或親本多肽有效地介導抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)的變異Fc區的多肽為在分析中具有變異Fc區之多肽與具有野生型Fc區之多肽(或親本多肽)之量基本上相同時活體外或活體內實質上更有效調節ADCC的多肽。一般而言，此類變異體將使用此項技術中已知之任何活體外ADCC分析鑑別，如用於測定ADCC活性之分析或方法，例如在動物模型中等。在一些實施例中，變異體比野生型Fc(或親本多肽)約5倍至約100倍(例如約25至約50倍)有效地調節ADCC。

「補體依賴性細胞毒性」或「CDC」係指靶細胞在補體存在下溶解。經典補體路徑之活化藉由補體系統(C1q)之第一組分結合至(適當

子類之)抗體起始，該等抗體結合至其同源抗原。為了評估補體活化，可進行CDC分析，例如如Gazzano-Santoro等人，*J. Immunol. Methods* 202:163 (1996)中所述。具有改變之Fc區胺基酸序列及增加或減少之C1q結合能力之多肽變異體描述於美國專利第6,194,551B1號及WO99/51642中。彼等專利公開案之內容以引用之方式特別併入本文中。亦參見Idusogie等人 *J. Immunol.* 164: 4178-4184 (2000)。

除非另外規定，否則「編碼胺基酸序列之核苷酸序列」包括為彼此之簡併形式且編碼相同胺基酸序列之所有核苷酸序列。片語編碼蛋白質或RNA之核苷酸序列亦可包括內含子，其達到編碼蛋白質之核苷酸序列可在一些型式中含有內含子之程度。

術語「可操作地連接」係指調節序列與異源核酸序列之間的功能鍵，其導致後者之表現。舉例而言，當第一核酸序列與第二核酸序列處於功能性關係時，第一核酸序列可操作地連接第二核酸序列。舉例而言，若啟動子影響編碼序列之轉錄或表現，則啟動子可操作地連接於編碼序列。一般而言，可操作地連接之DNA序列為連續的，且當必需接合兩個蛋白質編碼區時，在相同閱讀框架中。

「同源」係指兩個多肽之間或兩個核酸分子之間的序列相似性或序列一致性。當兩個比較序列中之一個位置由相同鹼基或胺基酸單體子單元佔據時，例如若兩個DNA分子中之每一者中的一個位置由腺嘌呤佔據，則該等分子在該位置處同源。兩個序列之間的同源性%為兩個序列共用之匹配或同源位置之數量除以所比較位置之數量乘以100之函數。舉例而言，若兩個序列中之6/10個位置匹配或同源，則兩個序列為60%同源。舉例而言，DNA序列ATTGCC及TATGGC共有50%同源性。一般而言，當兩個序列經對準以產生最大百分比同源時進行比較。

如本文中所揭示之抗EMC構築體或組合物之「有效量」為足以

進行特定陳述目的之量。「有效量」可憑經驗及藉由與所述目的相關之已知方法確定。

術語「治療有效量」係指有效「治療」個體中之疾病或病症的如本文中所揭示之抗EMC構築體或組合物的量。在癌症之情形下，如本文所揭示之抗EMC構築體或組合物或組合物之治療有效量可減少癌細胞數目；減少腫瘤尺寸或重量；抑制(亦即在一定程度上減緩且較佳終止)癌細胞浸潤至周邊器官中；抑制(亦即在一定程度上減緩且較佳終止)腫瘤轉移；在一定程度上抑制腫瘤生長；及/或在一定程度上減少一或多種與癌症相關之症狀。在如本文中所揭示之抗EMC構築體或組合物可阻止生長及/或殺死現有癌細胞之程度上，其可為細胞生長抑制及/或細胞毒性的。在一些實施例中，治療有效量為生長抑制量。在一些實施例中，治療有效量為延長患者存活期之量。在一些實施例中，治療有效量為改良患者之無進展存活期的量。

如本文所使用，「醫藥學上可接受」或「藥理學上相容」意謂不為生物學上或其他方面不適宜之物質，亦即，該物質可併入投與患者之醫藥組合物中而不會引起任何顯著不當生物學作用或以有害方式與含有其之組合物的任何其他組分相互作用。醫藥學上可接受之載劑或賦形劑較佳滿足毒理學及製造測試之所要求標準及/或包括於美國食品藥物管理局(U.S. Food and Drug administration)制定之非活性成分指南(Inactive Ingredient Guide)中。

術語「標記」當在本文中使用時係指可直接或間接結合至抗EMC抗體部分之可偵測化合物或組合物。標記可自身可偵測(例如放射性同位素標記或螢光標記)，或在酶標記之情況下，可催化受質化合物或組合物的化學改變，此改變為可偵測的。

應瞭解，本文所述之本發明實施例包括「由」實施例「組成」及/或「基本上由」實施例「組成」。

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

如本文所用，提及「不為」一值或參數一般意指及描述「除」一值或參數「以外」。舉例而言，方法不用於治療X型癌症意指方法用於治療除X以外的類型之癌症。

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

抗EMC構築體

在一態樣中，本發明提供NY-ESO-1/MHC I類複合體特異性構築體(抗EMC構築體)，其包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體(「NY-ESO-1/MHC I類複合體」或「EMC」)之抗體部分。抗EMC構築體之特異性來源於特異性結合於EMC之抗EMC抗體部分，如全長抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，提及特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之部分(如抗體部分)意指該部分在如下情況下結合至EMC：a)為其對於全長NY-ESO-1、游離NY-ESO-1肽、不結合至肽之MHC I類蛋白質及結合至非NY-ESO-1肽之MHC I類蛋白質中之每一者之結合親和力的至少約10(包括例如至少約10、20、30、40、50、75、100、200、300、400、500、750、1000或大於1000中的任一者)倍之親和力；或b)不超過其結合至全長NY-ESO-1、游離NY-ESO-1肽、不結合至肽之MHC I類蛋白質及結合至非NY-ESO-1肽之MHC I類蛋白質中之每一者之 K_d 的約1/10(如不超過約1/10、1/20、1/30、1/40、1/50、1/75、1/100、1/200、1/300、1/400、1/500、1/750、1/1000或1/1000以下中的任一者)倍之 K_d 。結合親和力可藉由此項技術中已知之方法，如ELIS螢光活化細胞分選(FACS)分析或放射免疫沈澱分析(RIA)測定。 K_d 可藉由此項技術中已知之方法，如利用例如Biacore儀器之表面電漿子共振(SPR)分

析，或利用例如Sapidyne儀器之動力學排除分析(KinExA)測定。

預期之抗EMC構築體包括例如全長抗EMC抗體、多特異性(如雙特異性)抗EMC分子、抗EMC嵌合抗原受體(CAR)及抗EMC免疫結合物。

舉例而言，在一些實施例中，提供抗EMC構築體(如經分離抗EMC構築體)，其包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗EMC抗體部分。在一些實施例中，NY-ESO-1肽為NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A02。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A*02:01 (Genbank寄存編號：AAO20853)。在一些實施例中，抗EMC構築體為非天然存在的。在一些實施例中，抗EMC構築體為全長抗體。在一些實施例中，抗EMC構築體為多特異性(如雙特異性)分子。在一些實施例中，抗EMC構築體為嵌合抗原受體。在一些實施例中，抗EMC構築體為免疫結合物。在一些實施例中，抗EMC構築體結合EMC，結合之 K_d 在約0.1 pM至約500 nM之間(如約0.1 pM、1.0 pM、10 pM、50 pM、100 pM、500 pM、1 nM、10 nM、50 nM、100 nM、或500 nM中的任一者，包括此等值之間的任何範圍)。在一些實施例中，抗EMC構築體與至少一個(如至少2、3、4、5或6個中的任一者)包含MHC I類蛋白質及具有一個胺基酸取代(如保守胺基酸取代)之NY-ESO-1肽之變異體之複合體交叉反應。在一些實施例中，抗EMC構築體與至少一個(如至少2、3、4或5個中的任一者)包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之不同亞型之複合體交叉反應。

在一些實施例中，提供抗EMC構築體，其包含特異性結合於包含NY-ESO-1 157-165 肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之複合體的抗EMC抗體部分。在一些實施例中，抗EMC構築體為非天然存在的。在一些實施例中，抗EMC構築體為全長抗體。在一些實施例中，抗

EMC構築體為多特異性(如雙特異性)分子。在一些實施例中，抗EMC構築體為嵌合抗原受體。在一些實施例中，抗EMC構築體為免疫結合物。在一些實施例中，抗EMC構築體結合EMC，結合之 K_d 在約0.1 pM至約500 nM之間(如約0.1 pM、1.0 pM、10 pM、50 pM、100 pM、500 pM、1 nM、10 nM、50 nM、100 nM、或500 nM中的任一者，包括此等值之間的任何範圍)。在一些實施例中，抗EMC構築體與至少一個(如至少2、3、4、5或6個中的任一者)包含MHC I類蛋白質及具有一個胺基酸取代(如保守胺基酸取代)之NY-ESO-1肽之變異體之複合體交叉反應。在一些實施例中，抗EMC構築體與至少一個(如至少2、3、4或5個中的任一者)包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之不同亞型之複合體交叉反應。

在一些實施例中，提供包含以下之抗EMC構築體：特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之抗EMC抗體部分，包含i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含胺基酸序列G-F/Y-S/T-F-D/S/T-D/N/S-Y/A-A/G/W (SEQ ID NO: 87)，或包含至多約3 (例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，HC-CDR2，該HC-CDR2包含胺基酸序列I/S-K/S-X-H/Y-X-G-X-T (SEQ ID NO: 88)，或包含至多約3 (例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含胺基酸序列A/G-X-W/Y-Y-X-X-X-F/Y-D (SEQ ID NO: 89)，或包含至多約3 (例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含胺基酸序列S/T-G/S-D/N-I/V-A/G-A/S/V-X-H/Y (SEQ ID NO: 120)，或包含至多約3 (例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含胺基酸序列Q-S/T-Y/W-D/T-S/T-A/S (SEQ ID NO: 121)，或包含至多約3 (例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；其中X可為任何胺

基酸。在一些實施例中，抗EMC構築體為非天然存在的。在一些實施例中，抗EMC構築體為全長抗體。在一些實施例中，抗EMC構築體為多特异性(如雙特异性)分子。在一些實施例中，抗EMC構築體為嵌合抗原受體。在一些實施例中，抗EMC構築體為免疫結合物。在一些實施例中，抗EMC構築體結合EMC，結合之 K_d 在約0.1 pM至約500 nM之間(如約0.1 pM、1.0 pM、10 pM、50 pM、100 pM、500 pM、1 nM、10 nM、50 nM、100 nM、或500 nM中的任一者，包括此等值之間的任何範圍)。在一些實施例中，抗EMC構築體與至少一個(如至少2、3、4、5或6個中的任一者)包含MHC I類蛋白質及具有一個胺基酸取代(如保守胺基酸取代)之NY-ESO-1肽之變異體之複合體交叉反應。在一些實施例中，抗EMC構築體與至少一個(如至少2、3、4或5個中的任一者)包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之不同亞型之複合體交叉反應。

在一些實施例中，提供抗EMC構築體，其包含特异性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗EMC抗體部分，其中抗EMC抗體部分包含：i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 95之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 96或97之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 98之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 99之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 100之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體。在一些實

施例中，重鏈可變域序列進一步包含SEQ ID NO: 101-106中的任一者之胺基酸序列的構架區1(HC-FR1)、包含SEQ ID NO: 107之胺基酸序列的構架區2(HC-FR2)、包含SEQ ID NO: 108-110中的任一者之胺基酸序列的構架區3(HC-FR3)及/或包含SEQ ID NO: 111-114中的任一者之胺基酸序列的構架區4(HC-FR4)。在一些實施例中，輕鏈可變域序列進一步包含包含SEQ ID NO: 115之胺基酸序列的構架區1(LC-FR1)、包含SEQ ID NO: 116-118中的任一者之胺基酸序列的構架區2(LC-FR2)、包含SEQ ID NO: 119-125中的任一者之胺基酸序列的構架區3(LC-FR3)及/或包含SEQ ID NO: 126-127中的任一者之胺基酸序列的構架區4(LC-FR4)。在一些實施例中，抗EMC構築體為非天然存在的。在一些實施例中，抗EMC構築體為全長抗體。在一些實施例中，抗EMC構築體為多特異性(如雙特異性)分子。在一些實施例中，抗EMC構築體為嵌合抗原受體。在一些實施例中，抗EMC構築體為免疫結合物。在一些實施例中，抗EMC構築體結合EMC，結合之 K_d 在約0.1 pM至約500 nM之間(如約0.1 pM、1.0 pM、10 pM、50 pM、100 pM、500 pM、1 nM、10 nM、50 nM、100 nM、或500 nM中的任一者，包括此等值之間的任何範圍)。在一些實施例中，抗EMC構築體與至少一個(如至少2、3、4、5或6個中的任一者)包含MHC I類蛋白質及具有一個胺基酸取代(如保守胺基酸取代)之NY-ESO-1肽之變異體之複合體交叉反應。在一些實施例中，抗EMC構築體與至少一個(如至少2、3、4或5個中的任一者)包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之不同亞型之複合體交叉反應。

在一些實施例中，提供包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之抗EMC抗體部分之抗EMC構築體，其中該抗EMC抗體部分包含：i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施

例中由其組成)，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)；或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域序列，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體。在一些實施例中，重鏈可變域序列進一步包含SEQ ID NO: 101-106中的任一者之胺基酸序列的HC-FR1、包含SEQ ID NO: 107之胺基酸序列的HC-FR2、包含SEQ ID NO: 108-110中的任一者之胺基酸序列的HC-FR3，及/或包含SEQ ID NO: 111-114中的任一者之胺基酸序列的HC-FR4。在一些實施例中，輕鏈可變域序列進一步包含SEQ ID NO: 115之胺基酸序列的LC-FR1、包含SEQ ID NO: 116-118中的任一者之胺基酸序列的LC-FR2、包含SEQ ID NO: 119-125中的任一者之胺基酸序列的LC-FR3及/或包含SEQ ID NO: 126-127中的任一者之胺基酸序列的LC-FR4。在一些實施例中，抗EMC構築體為非天然存在的。在一些實施例中，抗EMC構築體為全長抗體。在一些實施例中，抗EMC構築體為多特異性(如雙特異性)分子。在一些實施例中，

抗EMC構築體為嵌合抗原受體。在一些實施例中，抗EMC構築體為免疫結合物。在一些實施例中，抗EMC構築體結合EMC，結合之 K_d 在約0.1 pM至約500 nM之間(如約0.1 pM、1.0 pM、10 pM、50 pM、100 pM、500 pM、1 nM、10 nM、50 nM、100 nM、或500 nM中的任一者，包括此等值之間的任何範圍)。在一些實施例中，抗EMC構築體與至少一個(如至少2、3、4、5或6個中的任一者)包含MHC I類蛋白質及具有一個胺基酸取代(如保守胺基酸取代)之NY-ESO-1肽之變異體之複合體交叉反應。在一些實施例中，抗EMC構築體與至少一個(如至少2、3、4或5個中的任一者)包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之不同亞型之複合體交叉反應。

在一些實施例中，提供包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之抗EMC抗體部分的抗EMC構築體，其中抗EMC抗體部分包含：i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)；或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個HC-CDR序列中之胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域序列，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)；或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個LC-CDR序列中之胺基酸取代之其變異體。在一些實施例中，抗EMC構築體為非天然存在的。在一些實施例中，

抗EMC構築體為全長抗體。在一些實施例中，抗EMC構築體為多特异性(如雙特异性)分子。在一些實施例中，抗EMC構築體為嵌合抗原受體。在一些實施例中，抗EMC構築體為免疫結合物。在一些實施例中，抗EMC構築體結合EMC，結合之 K_d 在約0.1 pM至約500 nM之間(如約0.1 pM、1.0 pM、10 pM、50 pM、100 pM、500 pM、1 nM、10 nM、50 nM、100 nM、或500 nM中的任一者，包括此等值之間的任何範圍)。在一些實施例中，抗EMC構築體與至少一個(如至少2、3、4、5或6個中的任一者)包含MHC I類蛋白質及具有一個胺基酸取代(如保守胺基酸取代)之NY-ESO-1肽之變異體之複合體交叉反應。在一些實施例中，抗EMC構築體與至少一個(如至少2、3、4或5個中的任一者)包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之不同亞型之複合體交叉反應。

在一些實施例中，提供包含特异性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之抗EMC抗體部分的抗EMC構築體，其中抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 16-34中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，或具有至少約95%(例如至少約96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 36-50中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，或具有至少約95%(例如至少約96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體。在一些實施例中，抗EMC構築體為非天然存在的。在一些實施例中，抗EMC構築體為全長抗體。在一些實施例中，抗EMC構築體為多特异性(如雙特异性)分子。在一些實施例中，抗EMC構築體為嵌合抗原受體。在一些實施例中，抗EMC構築體為免疫結合物。在一些實施例中，抗EMC構築體結合EMC，結合之 K_d 在約0.1 pM至約500 nM之間(如約0.1 pM、1.0 pM、10 pM、50 pM、100 pM、500 pM、1 nM、10 nM、50

nM、100 nM、或500 nM中的任一者，包括此等值之間的任何範圍)。在一些實施例中，抗EMC構築體與至少一個(如至少2、3、4、5或6個中的任一者)包含MHC I類蛋白質及具有一個胺基酸取代(如保守胺基酸取代)之NY-ESO-1肽之變異體之複合體交叉反應。在一些實施例中，抗EMC構築體與至少一個(如至少2、3、4或5個中的任一者)包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之不同亞型之複合體交叉反應。

在一些實施例中，提供抗EMC構築體，其包含與根據本文所述之抗EMC抗體部分中的任一者之第二抗EMC抗體部分競爭結合至靶NY-ESO-1/MHC I類複合體之第一抗EMC抗體部分。在一些實施例中，第一抗EMC抗體部分與第二抗EMC抗體部分結合至相同，或大體上相同的抗原決定基。在一些實施例中，第一抗EMC抗體部分與靶NY-ESO-1/MHC I類複合體之結合抑制第二抗體部分與靶NY-ESO-1/MHC I類複合體之結合至少約70%(如至少約75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%中的任一者)，或反之亦然。在一些實施例中，第一抗EMC抗體部分及第二抗EMC抗體部分交叉競爭結合至靶NY-ESO-1/MHC I類複合體，即第一及第二抗體部分中之每一者彼此競爭結合至靶NY-ESO-1/MHC I類複合體。

舉例而言，在一些實施例中，提供抗EMC構築體，其包含與包含以下之抗體部分競爭結合至靶NY-ESO-1/MHC I類複合體之抗EMC抗體部分：i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 95之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 96或97之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO :98之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-

CDR1包含SEQ ID NO: 99之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 100之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體。

在一些實施例中，提供抗EMC構築體，其包含與包含以下之抗體部分競爭結合至靶NY-ESO-1/MHC I類複合體之抗EMC抗體部分：

i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域序列，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體。

在一些實施例中，提供抗EMC構築體，其包含與包含以下之抗體部分競爭結合至靶NY-ESO-1/MHC I類複合體之抗EMC抗體部分：

i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO:

51-59中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)；或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個HC-CDR序列中之胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域序列，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)；或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個LC-CDR序列中之胺基酸取代之其變異體。

在一些實施例中，提供抗EMC構築體，其包含與包含以下之抗體部分競爭結合至靶NY-ESO-1/MHC I類複合體之抗EMC抗體部分：重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 16-34中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，或具有至少約95%(例如至少約96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 36-50中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，或具有至少約95%(例如至少約96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體。

不同態樣更詳細地論述於下文各部分中。

抗EMC抗體部分

抗EMC構築體包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗EMC抗體部分。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分特異性結合於存在於細胞表面上之EMC。在一些實施例中，該細胞為癌細胞。在一些實施例中，

癌細胞係在實體腫瘤中。在一些實施例中，癌細胞為轉移性癌細胞。

在一些實施例中，NY-ESO-1肽為MHC I類限制肽。在一些實施例中，NY-ESO-1肽之長度為約8至約12(如約8、9、10、11或12中的任一者)個胺基酸。

在一些實施例中，NY-ESO-1肽包含NY-ESO-1之胺基酸155-163(QLSLLMWIT，SEQ ID NO: 3)、NY-ESO-1之胺基酸157-165(SLLMWITQC，SEQ ID NO: 4，在本文中亦稱為「NY-ESO-1 157-165」)或NY-ESO-1之胺基酸157-167(SLLMWITQCFL，SEQ ID NO: 5)之序列(且在一些實施例中由其組成)。

在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-E、HLA-F或HLA-G。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，HLA-A為HLA-A02。在一些實施例中，HLA-A02為HLA-A*02:01。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分為全長抗體。在一些實施例中，抗EMC抗體部分為抗原結合片段，例如選自由以下組成之群的抗原結合片段：Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv片段、二硫鍵穩定性Fv片段(dsFv)、及單鏈抗體分子(scFv)。在一些實施例中，抗EMC抗體部分為scFv。在一些實施例中，抗EMC抗體部分為人類、人類化或半合成的。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分特異性結合於複合體中之NY-ESO-1肽之N端部分。在一些實施例中，抗EMC抗體部分特異性結合於複合體中之NY-ESO-1肽之C端部分。在一些實施例中，抗EMC抗體部分特異性結合於複合體中之NY-ESO-1肽之中間部分。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體，其中抗EMC抗體部分與至少一個(如至少2、3、4或5個中的任一者)包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之

對偶基因變異體之複合體交叉反應。在一些實施例中，當相比於MHC I類蛋白質時，對偶基因變異體具有至多約10(如約1、2、3、4、5、6、7、8、9或10中的任一者)個胺基酸取代。在一些實施例中，對偶基因變異體為與MHC I類蛋白質相同之血清型。在一些實施例中，對偶基因變異體為與MHC I類蛋白質不同之血清型。在一些實施例中，抗EMC抗體部分不與包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之任何對偶基因變異體之複合體交叉反應。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體，其中抗EMC抗體部分與至少一個(如至少2、3、4、5或6個中的任一者)包含MHC I類蛋白質及具有一個胺基酸取代(如保守胺基酸取代)之NY-ESO-1肽之變異體的複合體交叉反應。在一些實施例中，抗EMC抗體部分不與包含MHC I類蛋白質及NY-ESO-1肽之變異體之任何複合體交叉反應。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分(或包含抗EMC抗體部分之抗EMC構築體)結合至包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體，結合親和力為其對於全長NY-ESO-1、游離NY-ESO-1肽、不結合至肽之MHC I類蛋白質及結合至非NY-ESO-1肽之MHC I類蛋白質中之每一者之結合親和力的至少約10(包括例如至少約10、20、30、40、50、75、100、200、300、400、500、750、1000或大於1000中的任一者)倍。在一些實施例中，抗EMC抗體部分(或包含抗EMC抗體部分之抗EMC構築體)結合至包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體，結合之 K_d 不超過其結合至全長NY-ESO-1、游離NY-ESO-1肽、不結合至肽之MHC I類蛋白質及結合至非NY-ESO-1肽之MHC I類蛋白質中之每一者之 K_d 的約1/10(如不超過約1/10、1/20、1/30、1/40、1/50、1/75、1/100、1/200、1/300、1/400、1/500、1/750、1/1000或小於1/1000中的任一者)倍。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分(或包含抗EMC抗體部分之抗EMC構築體)結合至包含與MHC I類蛋白質結合之NY-ESO-1肽的複合體，結合之Kd在約0.1 pM至約500 nM之間(如約0.1 pM、1.0 pM、10 pM、50 pM、100 pM、500 pM、1 nM、10 nM、50 nM、100 nM或500 nM中的任一者，包括此等值之間的任何範圍)。在一些實施例中，抗EMC抗體部分(或包含抗EMC抗體部分之抗EMC構築體)結合至包含與MHC I類蛋白質結合之NY-ESO-1肽的複合體，結合之Kd在約1 pM至約250 pM之間(如約1、10、25、50、75、100、150、200或250 pM中的任一者，包括此等值之間的任何範圍)。在一些實施例中，抗EMC抗體部分(或包含抗EMC抗體部分之抗EMC構築體)結合至包含與MHC I類蛋白質結合之NY-ESO-1肽的複合體，結合之Kd在約1 nM至約500 nM之間(如約1、10、25、50、75、100、150、200、250、300、350、400、450或500 nM中的任一者，包括此等值之間的任何範圍)。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分與至少一個(如至少2、3、4、5或6個中的任一者)包含MHC I類蛋白質及具有一個胺基酸取代(如保守胺基酸取代)之NY-ESO-1肽之變異體之複合體交叉反應。在一些實施例中，抗EMC抗體部分與至少一個(如至少2、3、4或5個中的任一者)包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之不同亞型之複合體交叉反應。

舉例而言，在一些實施例中，抗EMC抗體部分特異性結合於包含NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體。在一些實施例中，抗EMC抗體部分進一步結合至以下中之至少一者(包括至少約2、3、4、5、6或7者中的任一情形)：包含SEQ ID NO: 7之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體；包含SEQ ID NO:

9之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體；包含SEQ ID NO: 10之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體；包含SEQ ID NO: 11之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體；包含SEQ ID NO: 12之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體；包含SEQ ID NO: 13之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體；及包含SEQ ID NO: 14之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分特異性結合於：包含SEQ ID NO: 4之NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體；包含SEQ ID NO: 7之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體；及包含SEQ ID NO: 9之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體。在一些實施例中，抗EMC抗體部分特異性結合於：包含SEQ ID NO: 4之NY-ESO-1肽及HLA-A*02:01之複合體；包含SEQ ID NO: 7之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及HLA-A*02:01之複合體；及包含SEQ ID NO: 9之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及HLA-A*02:01之複合體。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分特異性結合於：包含SEQ ID NO: 4之NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體；包含SEQ ID NO: 7之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體；包含SEQ ID NO: 10之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體；及包含SEQ ID NO: 14之丙胺酸

取代NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體。在一些實施例中，抗EMC抗體部分特異性結合於：包含SEQ ID NO: 4之NY-ESO-1肽及HLA-A*02:01之複合體；包含SEQ ID NO: 7之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及HLA-A*02:01之複合體；包含SEQ ID NO: 10之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及HLA-A*02:01之複合體；及包含SEQ ID NO: 14之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及-A*02:01之複合體。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分特異性結合於：包含SEQ ID NO: 4之NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體；包含SEQ ID NO: 7之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體；包含SEQ ID NO: 9之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體；包含SEQ ID NO: 13之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體；及包含SEQ ID NO: 14之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體。在一些實施例中，抗EMC抗體部分特異性結合於：包含SEQ ID NO: 4之NY-ESO-1肽及HLA-A*02:01之複合體；包含SEQ ID NO: 7之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及HLA-A*02:01之複合體；包含SEQ ID NO: 9之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及HLA-A*02:01之複合體；包含SEQ ID NO: 13之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及HLA-A*02:01之複合體；及包含SEQ ID NO: 14之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及HLA-A*02:01之複合體。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分特異性結合於：包含SEQ ID NO: 4之NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體；包含SEQ ID NO: 7之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體；包含SEQ ID NO: 9之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-

A02，例如HLA-A*02:01)之複合體；包含SEQ ID NO: 10之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體；包含SEQ ID NO: 13之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體；及包含SEQ ID NO: 14之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體。在一些實施例中，抗EMC抗體部分特異性結合於：包含SEQ ID NO: 4之NY-ESO-1肽及HLA-A*02:01之複合體；包含SEQ ID NO: 7之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及HLA-A*02:01之複合體；包含SEQ ID NO: 9之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及HLA-A*02:01之複合體；包含SEQ ID NO: 10之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及HLA-A*02:01之複合體；包含SEQ ID NO: 13之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及HLA-A*02:01之複合體；及包含SEQ ID NO: 14之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及HLA-A*02:01之複合體。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分特異性結合於：包含SEQ ID NO: 4之NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體；包含SEQ ID NO: 7之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體；包含SEQ ID NO: 9之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體；包含SEQ ID NO: 10之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體；包含SEQ ID NO: 12之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體；及包含SEQ ID NO: 13之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體；及包含SEQ ID NO: 14之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體。在一些實施例中，抗EMC抗體部分特異性結合於：包含SEQ ID

NO: 4之NY-ESO-1肽及HLA-A*02:01之複合體；包含SEQ ID NO: 7之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及HLA-A*02:01之複合體；包含SEQ ID NO: 9之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及HLA-A*02:01之複合體；包含SEQ ID NO: 10之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及HLA-A*02:01之複合體；包含SEQ ID NO: 12之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及HLA-A*02:01之複合體；包含SEQ ID NO: 13之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及HLA-A*02:01之複合體；及包含SEQ ID NO: 14之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及HLA-A*02:01之複合體。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分特異性結合於：包含SEQ ID NO: 4之NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體；包含SEQ ID NO: 7之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體；包含SEQ ID NO: 9之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體；包含SEQ ID NO: 11之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體；包含SEQ ID NO: 12之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體；及包含SEQ ID NO: 13之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體；及包含SEQ ID NO: 14之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體。在一些實施例中，抗EMC抗體部分特異性結合於：包含SEQ ID NO: 4之NY-ESO-1肽及HLA-A*02:01之複合體；包含SEQ ID NO: 7之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及HLA-A*02:01之複合體；包含SEQ ID NO: 9之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及HLA-A*02:01之複合體；包含SEQ ID NO: 11之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及HLA-A*02:01之複合體；包含SEQ ID NO: 12之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及HLA-A*02:01之複合體；包含

SEQ ID NO: 13之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及HLA-A*02:01之複合體；及包含SEQ ID NO: 14之丙胺酸取代NY-ESO-1肽及HLA-A*02:01之複合體。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分特異性結合於包含NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之複合體。在一些實施例中，抗EMC抗體部分與以下中之至少一者(包括至少約2、3、4、5或6者中之任一情形)交叉反應：包含NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02 (Genbank寄存編號：AFL91480)之複合體、包含NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:03 (Genbank寄存編號：AAA03604)之複合體、包含NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:05 (Genbank寄存編號：AAA03603)之複合體、包含NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:06 (Genbank寄存編號：CCB78868)之複合體、包含NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:07 (Genbank寄存編號：ACR55712)之複合體，及包含NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:11 (Genbank寄存編號：CAB56609)之複合體。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分特異性結合於：包含NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之複合體；包含NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02之複合體；及包含NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:06之複合體。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分特異性結合於：包含NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之複合體；包含NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02之複合體；包含NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:03之複合體；及包含NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:06之複合體。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分特異性結合於：包含NY-ESO-

1 157-165 (SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之複合體；包含NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02之複合體；包含NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:03之複合體；包含NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:05之複合體；及包含NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:06之複合體。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分特異性結合於：包含NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之複合體；包含NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02之複合體；包含NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:03之複合體；包含NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:05之複合體；包含NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:06之複合體；及包含NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:11之複合體。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分特異性結合於：包含NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體；及包含具有SLLMWITQV之胺基酸序列(SEQ ID NO: 6)之NY-ESO-1 157-165變異體及MHC I類蛋白質(如HLA-A02，例如HLA-A*02:01)之複合體。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分為包含全人類序列及一或多個合成區域之半合成抗體部分。在一些實施例中，抗EMC抗體部分為包含全人類輕鏈可變域及半合成重鏈可變域之半合成抗體部分，該半合成重鏈可變域包含全人類FR1、HC-CDR1、FR2、HC-CDR2、FR3及FR4區及合成HC-CDR3。在一些實施例中，半合成重鏈可變域包含全合成HC-CDR3，其具有長度為約5至約25(如約5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25中的任一者)個胺基酸之序列。在一些實施例中，半合成重鏈可變域或合成HC-CDR3獲自半合成文庫(如半合成人類文庫)，其包含具有

長度為約5至約25(如約5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25中的任一者)個胺基酸之序列的全合成HC-CDR3，其中序列中之各胺基酸隨機選自標準人類胺基酸，減去半胱胺酸。在一些實施例中，合成HC-CDR3之長度為約7至約15(如約7、8、9、10、11、12、13、14或15中的任一者)個胺基酸。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含特定序列或此類序列之某些變異體。在一些實施例中，變異序列中之胺基酸取代不大體上減弱抗EMC抗體部分結合EMC之能力。舉例而言，可進行不大體上減弱EMC結合親和力之改變。亦涵蓋大體上改良EMC結合親和力或影響一些其他特性，如特異性及/或與EMC之相關變異體之交叉反應性之改變。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含i)重鏈可變域，其包含HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 98之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 100之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體。在一些實施例中，重鏈可變域序列進一步包含含SEQ ID NO: 101-106中的任一者之胺基酸序列的HC-FR1、包含SEQ ID NO: 107之胺基酸序列的HC-FR2、包含SEQ ID NO: 108-110中的任一者之胺基酸序列的HC-FR3及/或包含SEQ ID NO: 111-114中的任一者之胺基酸序列的HC-FR4。在一些實施例中，輕鏈可變域序列進一步包含含SEQ ID NO: 115之胺基酸序列的LC-FR1、包含SEQ ID NO: 116-118中的任一者之胺基酸序列的LC-FR2、包含SEQ ID NO: 119-125中的任一者之胺基酸序列的LC-FR3及/或包含SEQ ID NO: 126-127中的任一者之胺基酸序列的LC-FR4。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含i)重鏈可變域，其包含HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 98之胺基酸序列；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 100之胺基酸序列。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含i)重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 95之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 96或97之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 98之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 99之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 100之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體。在一些實施例中，重鏈可變域序列進一步包含含SEQ ID NO: 101-106中的任一者之胺基酸序列的HC-FR1、包含SEQ ID NO: 107之胺基酸序列的HC-FR2、包含SEQ ID NO: 108-110中的任一者之胺基酸序列的HC-FR3及/或包含SEQ ID NO: 111-114中的任一者之胺基酸序列的HC-FR4。在一些實施例中，輕鏈可變域序列進一步包含含SEQ ID NO: 115之胺基酸序列的LC-FR1、包含SEQ ID NO: 116-118中的任一者之胺基酸序列的LC-FR2、包含SEQ ID NO: 119-125中的任一者之胺基酸序列的LC-FR3及/或包含SEQ ID NO: 126-127中的任一者之胺基酸序列的LC-FR4。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含i)重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 95之胺基酸序列，或包含至

多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 96或97之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 98之胺基酸序列；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 99之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 100之胺基酸序列。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含i)重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 95之胺基酸序列，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 96或97之胺基酸序列，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 98之胺基酸序列；或包含至多約3(如約1、2或3中的任一者)個HC-CDR序列中之胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 99之胺基酸序列，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 100之胺基酸序列；或包含至多約3(如約1、2或3中的任一者)個LC-CDR序列中之胺基酸取代之其變異體。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含i)重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 95之胺基酸序列，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 96或97之胺基酸序列，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 98之胺基酸序列；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 99之胺基酸序列，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 100之胺基酸序列。本文中所提及之CDR序列提供於下表2中。

表2

HC-CDR1共同序列	SEQ ID NO: 95	G-G/Y-T-F-S/T-S-Y-A/G
HC-CDR2共同序列1	SEQ ID NO: 96	I-I-P-I-F/L-G-T-A
HC-CDR2共同序列2	SEQ ID NO: 97	I-S-A-X-X-G-X-T

HC-CDR3共同序列	SEQ ID NO: 98	A-R-Y-X-X-Y
LC-CDR1共同序列	SEQ ID NO: 99	S-S-N-I-G-A/N-G/N-Y
LC-CDR3共同序列	SEQ ID NO: 100	G/Q-S/T-W/Y-D-S/T-S-L-S/T-A/G-W/Y-V

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含i)重鏈可變域，其包含HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列，或其變異體，包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列，或其變異體，包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代。在一些實施例中，重鏈可變域序列進一步包含含SEQ ID NO: 101-106中的任一者之胺基酸序列的HC-FR1、包含SEQ ID NO: 107之胺基酸序列的HC-FR2、包含SEQ ID NO: 108-110中的任一者之胺基酸序列的HC-FR3及/或包含SEQ ID NO: 111-114中的任一者之胺基酸序列的HC-FR4。在一些實施例中，輕鏈可變域序列進一步包含含SEQ ID NO: 115之胺基酸序列的LC-FR1、包含SEQ ID NO: 116-118中的任一者之胺基酸序列的LC-FR2、包含SEQ ID NO: 119-125中的任一者之胺基酸序列的LC-FR3及/或包含SEQ ID NO: 126-127中的任一者之胺基酸序列的LC-FR4。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含i)重鏈可變域，其包含HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含i)重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)

個胺基酸取代之其變異體，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約3(如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體。在一些實施例中，重鏈可變域序列進一步包含含SEQ ID NO: 101-106中的任一者之胺基酸序列的HC-FR1、包含SEQ ID NO: 107之胺基酸序列的HC-FR2、包含SEQ ID NO: 108-110中的任一者之胺基酸序列的HC-FR3及/或包含SEQ ID NO: 111-114中的任一者之胺基酸序列的HC-FR4。在一些實施例中，輕鏈可變域序列進一步包含含SEQ ID NO: 115之胺基酸序列的LC-FR1、包含SEQ ID NO: 116-118中的任一者之胺基酸序列的LC-FR2、包含SEQ ID NO: 119-125中的任一者之胺基酸序列的LC-FR3及/或包含SEQ ID NO: 126-127中的任一者之胺基酸序列的LC-FR4。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含i)重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序

列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約3(如1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列；或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個HC-CDR序列中之胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域序列，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列；或包含約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個LC-CDR序列中之胺基酸取代之其變異體。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列；或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，其中胺基酸取代係在HC-CDR1或HC-CDR2中；及ii)輕鏈可變域序列，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序

列；或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，其中胺基酸取代係在HC-CDR1或HC-CDR2中。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列；及ii)輕鏈可變域序列，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列。本文中提及之HC-CDR之序列提供於下表3中且本文中提及之LC-CDR提供於下表4中。

表3

SEQ ID NO: 51 HC-CDR1 35	GDTFSSYS	SEQ ID NO: 60 HC-CDR2 35	IIPILGIA	SEQ ID NO: 67 HC-CDR3 35	ARDWSYSIDY
SEQ ID NO: 52 HC-CDR1 52	GYTFTSY G	SEQ ID NO: 61 HC-CDR2 52	ISAYNGNT	SEQ ID NO: 68 HC-CDR3 52	ARYSGYYAGDS
SEQ ID NO: 53 HC-CDR1 76	GGTFSSYA	SEQ ID NO: 62 HC-CDR2 66	FIPNLNKG	SEQ ID NO: 69 HC-CDR3 66	ARGDYGSDQ
SEQ ID NO: 54 HC-CDR1 116	GYTFTKY G	SEQ ID NO: 63 HC-CDR2 76	IIPIFGTA	SEQ ID NO: 70 HC-CDR3 76	ARYDSYVYDE
SEQ ID NO: 55 HC-CDR1 146	GYTLTDLP	SEQ ID NO: 64 HC-CDR2 116	ISADSGKT	SEQ ID NO: 71 HC-CDR3 116	ARDDDS
SEQ ID NO: 56 HC-CDR1 35-2	GDTFSSYY	SEQ ID NO: 65 HC-CDR2 146	FDPEDGEI	SEQ ID NO: 72 HC-CDR3 146	ARYVPYVSYS DS
SEQ ID NO: 57 HC-CDR1 35-4	EDTFSSYY	SEQ ID NO: 66 HC-CDR2 35-16	IIPTLGIA	SEQ ID NO: 73 HC-CDR3 148	ARSYWSWTPYD P
SEQ ID NO: 58 HC-CDR1 35-12	GDTFSNYS			SEQ ID NO: 74 HC-CDR3 35-3	AREWSYSIDY
SEQ ID NO: 59 HC-CDR1 35-21	ADTFSSYY			SEQ ID NO: 75 HC-CDR3 35-15	ALDWSYSIDY
				SEQ ID NO: 76 HC-CDR3 35-17	ARDWPYSIDY

表4

SEQ ID NO: 77 LC-CDR1 35	SSNIGNNY	SEQ ID NO: 83 LC-CDR2 35	DNN	SEQ ID NO: 88 LC-CDR3 35	GTWDSSLSAWV
SEQ ID NO: 78 LC-CDR1 52	SSNIGAGYD	SEQ ID NO: 84 LC-CDR2 52	GDT	SEQ ID NO: 89 LC-CDR3 52	QSYDSNLYTYV
SEQ ID NO: 79 LC-CDR1 76	GSNIGAGYD	SEQ ID NO: 85 LC-CDR2 66	GNS	SEQ ID NO: 90 LC-CDR3 66	QSYDSSLSGSWV
SEQ ID NO: 80 LC-CDR1 146	QSLHSHNGYN Y	SEQ ID NO: 86 LC-CDR2 146	LGS	SEQ ID NO: 91 LC-CDR3 76	QSYDSSLSGWGI
SEQ ID NO: 81 LC-CDR1 148	NIGSKS	SEQ ID NO: 87 LC-CDR2 148	YDS	SEQ ID NO: 92 LC-CDR3 116	GTWDSSLSAEV
SEQ ID NO: 82 LC-CDR1 35-15	ISNIGNNY			SEQ ID NO: 93 LC-CDR3 146	MQALQTPYT
				SEQ ID NO: 94 LC-CDR3 148	QVWDSSSDHYV

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 16-34中的任一者之胺基酸序列，或具有至少約95%(包括例如至少約96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 36-50中的任一者之胺基酸序列，或具有至少約95%(包括例如至少96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體。在一些實施例中，重鏈可變域序列進一步包含SEQ ID NO: 101-106中的任一者之胺基酸序列的HC-FR1、包含SEQ ID NO: 107之胺基酸序列的HC-FR2、包含SEQ ID NO: 108-110中的任一者之胺基酸序列的HC-FR3及/或包含SEQ ID NO: 111-114中的任一者之胺基酸序列的HC-FR4。在一些實施例中，輕鏈可變域序列進一步包含SEQ ID NO: 115之胺基酸序列的LC-FR1、包含SEQ ID NO: 116-118中的任一者之胺基酸序列的LC-FR2、包含SEQ ID NO: 119-125中的任一者之胺基酸序列的LC-FR3及/或包含SEQ ID NO: 126-127中的任一者之胺基酸序列的LC-FR4。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 16-34中的任一者之胺基酸序列，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 36-50中的任一者之胺基酸序列。

重鏈及輕鏈可變域可以各種成對組合來組合以產生多種抗EMC抗體部分。在一些實施例中，重鏈可變域序列包含SEQ ID NO:

101-106中的任一者之胺基酸序列的HC-FR1、包含SEQ ID NO: 107之胺基酸序列的HC-FR2、包含SEQ ID NO: 108-110中的任一者之胺基酸序列的HC-FR3及/或包含SEQ ID NO: 111-114中的任一者之胺基酸序列的HC-FR4。在一些實施例中，輕鏈可變域序列進一步包含含SEQ ID NO: 115之胺基酸序列的LC-FR1、包含SEQ ID NO: 116-118中的任一者之胺基酸序列的LC-FR2、包含SEQ ID NO: 119-125中的任一者之胺基酸序列的LC-FR3及/或包含SEQ ID NO: 126-127中的任一者之胺基酸序列的LC-FR4。

舉例而言，在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及輕鏈可變域，包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51之胺基酸序列，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60之胺基酸序列，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、

3、4或5中的任一者)個HC-CDR序列中之胺基酸取代之其變異體；及輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77之胺基酸序列，LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83之胺基酸序列，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個LC-CDR序列中之胺基酸取代之其變異體。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51之胺基酸序列，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60之胺基酸序列，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67之胺基酸序列；及輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77之胺基酸序列，LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83之胺基酸序列，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88之胺基酸序列。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 52之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 61之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 68之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及輕鏈可變域，包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 78之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 84之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 89之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代

之其變異體。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 52之胺基酸序列，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 61之胺基酸序列，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 68之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個HC-CDR序列中之胺基酸取代之其變異體；及輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 78之胺基酸序列，LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 84之胺基酸序列，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 89之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個LC-CDR序列中之胺基酸取代之其變異體。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 52之胺基酸序列，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 61之胺基酸序列，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 68之胺基酸序列；及輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 78之胺基酸序列，LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 84之胺基酸序列，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 89之胺基酸序列。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 52之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 62之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 69之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及輕鏈可變域，包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 78之胺

基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 85之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 90之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 52之胺基酸序列，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 62之胺基酸序列，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 69之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個HC-CDR序列中之胺基酸取代之其變異體；及輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 78之胺基酸序列，LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 85之胺基酸序列，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 90之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個LC-CDR序列中之胺基酸取代之其變異體。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 52之胺基酸序列，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 62之胺基酸序列，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 69之胺基酸序列；及輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 78之胺基酸序列，LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 85之胺基酸序列，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 90之胺基酸序列。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 53之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；HC-

CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 63之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 70之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及輕鏈可變域，包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 79之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 85之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 91之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 53之胺基酸序列，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 63之胺基酸序列，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 70之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個HC-CDR序列中之胺基酸取代之其變異體；及輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 79之胺基酸序列，LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 85之胺基酸序列，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 91之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個LC-CDR序列中之胺基酸取代之其變異體。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 53之胺基酸序列，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 63之胺基酸序列，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 70之胺基酸序列；及輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 79之胺基酸序列，LC-CDR2，該

LC-CDR2包含SEQ ID NO: 85之胺基酸序列，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 91之胺基酸序列。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 54之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 64之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 71之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及輕鏈可變域，包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 92之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 54之胺基酸序列，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 64之胺基酸序列，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 71之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個HC-CDR序列中之胺基酸取代之其變異體；及輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77之胺基酸序列，LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83之胺基酸序列，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 92之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個LC-CDR序列中之胺基酸取代之其變異體。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 54之胺基酸序列，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 64之胺基酸序列，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 71之胺基酸序列；及輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77之胺基酸序列，LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83之胺基酸序列，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 92之胺基酸序列。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 55之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 65之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 72之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及輕鏈可變域，包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 80之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 86之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 93之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 55之胺基酸序列，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 65之胺基酸序列，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 72之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個HC-CDR序列中之胺基酸取代之其變異體；及

輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 80之胺基酸序列，LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 86之胺基酸序列，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 93之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個LC-CDR序列中之胺基酸取代之其變異體。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 55之胺基酸序列，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 65之胺基酸序列，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 72之胺基酸序列；及輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 80之胺基酸序列，LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 86之胺基酸序列，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 93之胺基酸序列。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 53之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 63之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 73之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及輕鏈可變域，包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 81之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 87之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 94之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 53之胺基酸序列，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 63之胺基酸序列，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 73之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個HC-CDR序列中之胺基酸取代之其變異體；及輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 81之胺基酸序列，LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 87之胺基酸序列，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 94之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個LC-CDR序列中之胺基酸取代之其變異體。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 53之胺基酸序列，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 63之胺基酸序列，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 73之胺基酸序列；及輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 81之胺基酸序列，LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 87之胺基酸序列，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 94之胺基酸序列。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 16中所闡述之胺基酸序列，或具有至少約95%(例如至少約96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 36中所闡述之胺基酸序列，或具有至少約95%(包括例如至少約96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體。在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 16中所闡述之胺基酸序列，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 36中所闡述之胺基酸序列。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含SEQ

ID NO: 17中所闡述之胺基酸序列，或具有至少約95%(包括例如至少約96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 37中所闡述之胺基酸序列，或具有至少約95%(包括例如至少約96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體。在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 17中所闡述之胺基酸序列，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 37中所闡述之胺基酸序列。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 18中所闡述之胺基酸序列，或具有至少約95%(例如至少約96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 38中所闡述之胺基酸序列，或具有至少約95%(包括例如至少約96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體。在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 18中所闡述之胺基酸序列，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 38中所闡述之胺基酸序列。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 19中所闡述之胺基酸序列，或具有至少約95%(例如至少約96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 39中所闡述之胺基酸序列，或具有至少約95%(包括例如至少約96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體。在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 19中所闡述之胺基酸序列，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 39中所闡述之胺基酸序列。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 20中所闡述之胺基酸序列，或具有至少約95%(例如至少約96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體，及輕鏈

可變域，其包含SEQ ID NO: 40中所闡述之胺基酸序列，或具有至少約95%(包括例如至少約96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體。在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 20中所闡述之胺基酸序列，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 40中所闡述之胺基酸序列。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 21中所闡述之胺基酸序列，或具有至少約95%(例如至少約96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 41中所闡述之胺基酸序列，或具有至少約95%(包括例如至少約96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體。在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 21中所闡述之胺基酸序列，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 41中所闡述之胺基酸序列。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 22中所闡述之胺基酸序列，或具有至少約95%(例如至少約96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 42中所闡述之胺基酸序列，或具有至少約95%(包括例如至少約96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體。在一些實施例中，抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 22中所闡述之胺基酸序列，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 42中所闡述之胺基酸序列。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分與根據本文所述之抗EMC抗體部分中的任一者之第二抗EMC抗體部分競爭結合至靶NY-ESO-1/MHC I類複合體。在一些實施例中，抗EMC抗體部分與第二抗EMC抗體部分結合至相同，或大體上相同的抗原決定基。在一些實施例中，抗EMC抗體部分與靶NY-ESO-1/MHC I類複合體之結合抑制第二

抗體部分與靶NY-ESO-1/MHC I類複合體之結合至少約70%(如至少約75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%中的任一者)，或反之亦然。在一些實施例中，抗EMC抗體部分及第二抗EMC抗體部分交叉競爭結合至靶NY-ESO-1/MHC I類複合體，即抗體部分中之每一者彼此競爭結合至靶NY-ESO-1/MHC I類複合體。

舉例而言，在一些實施例中，抗EMC抗體部分與包含以下之抗體部分競爭結合至靶NY-ESO-1/MHC I類複合體：i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 95之胺基酸序列，或包含至多約3 (例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 96或97之胺基酸序列，或包含至多約3 (例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 98之胺基酸序列，或包含至多約3 (例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 99之胺基酸序列，或包含至多約3 (例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 100之胺基酸序列，或包含至多約3 (例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分與包含以下之抗體部分競爭結合至靶NY-ESO-1/MHC I類複合體：i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，或包含至多約5 (例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，或包含至多約5 (例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-

76中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，或包含至多約5 (例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域序列，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，或包含至多約5 (例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，或包含至多約3 (例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，或包含至多約5 (例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分與包含以下之抗體部分競爭結合至靶NY-ESO-1/MHC I類複合體：i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)；或包含至多約5 (例如約1、2、3、4或5中的任一者)個HC-CDR序列中之胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域序列，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)；或包含LC-CDR序列中之至多約5 (例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分與包含以下之抗體部分競爭結合至靶NY-ESO-1/MHC I類複合體：重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 16-34中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，或具有至少約95%(例如至少約96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 36-50中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，或具有至少約95%(例如至少約96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體。

全長抗EMC抗體

在一些實施例中，抗EMC構築體為包含抗EMC抗體部分之全長抗體(在本文中亦稱為「全長抗EMC抗體」)。在一些實施例中，全長抗體為單株抗體。

在一些實施例中，全長抗EMC抗體包含來自免疫球蛋白，如IgA、IgD、IgE、IgG及IgM之Fc序列。在一些實施例中，全長抗EMC抗體包含IgG，如IgG1、IgG2、IgG3或IgG4中的任一者之Fc序列。在一些實施例中，全長抗EMC抗體包含人類免疫球蛋白之Fc序列。在一些實施例中，全長抗EMC抗體包含小鼠免疫球蛋白之Fc序列。在一些實施例中，全長抗EMC抗體包含已經變更或另外改變以使其具有增強的抗體依賴性細胞毒性(ADCC)或補體依賴性細胞毒性(CDC)效應功能之Fc序列。

因此，舉例而言，在一些實施例中，提供包含以下之全長抗EMC抗體：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之抗EMC抗體部分，及b)Fc區。在一些實施例中，NY-ESO-1肽為NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A02。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A*02:01。在一些實施例中，提供包含以下之全長抗EMC抗體：a)特異性結合於

包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之複合體之抗EMC抗體部分，及b)Fc區。在一些實施例中，Fc區包含IgG1 Fc序列。在一些實施例中，Fc區包含人類IgG1 Fc序列。在一些實施例中，Fc區包含小鼠IgG1 Fc序列。在一些實施例中，抗EMC抗體部分與至少一個(如至少2、3、4、5或6個中的任一者)包含MHC I類蛋白質及具有一個胺基酸取代(如保守胺基酸取代)之NY-ESO-1肽之變異體之複合體交叉反應。在一些實施例中，抗EMC抗體部分與至少一個(如至少2、3、4或5個中的任一者)包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之不同亞型之複合體交叉反應。

舉例而言，在一些實施例中，提供包含以下之全長抗EMC抗體：a)特異性結合於包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之複合體的抗EMC抗體部分，其中抗EMC抗體部分與以下者交叉反應：i)包含具有SEQ ID NO: 7或9之胺基酸序列的NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者(亦即包含SEQ ID NO: 7之肽及HLA-A*02:01之複合體及包含SEQ ID NO: 9之肽及HLA-A*02:01之複合體中之每一者)；ii)包含具有SEQ ID NO: 7、10及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者(亦即包含SEQ ID NO: 7之肽及HLA-A*02:01之複合體、包含SEQ ID NO: 10及HLA-A*02:01之肽之複合體及包含SEQ ID NO: 14之肽及HLA-A*02:01之複合體中之每一者)；iii)包含具有SEQ ID NO: 7、9、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者(亦即包含SEQ ID NO: 7之肽及HLA-A*02:01之複合體、包含SEQ ID NO: 9之肽及HLA-A*02:01之複合體、包含SEQ ID NO: 13之肽及HLA-A*02:01之複合體及包含SEQ ID NO: 14之肽及HLA-A*02:01之複合體中之每一者)；iv)包含具有SEQ ID NO: 7、9、10、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1

肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者(亦即包含SEQ ID NO: 7之肽及HLA-A*02:01之複合體、包含SEQ ID NO: 9之肽及HLA-A*02:01之複合體、包含SEQ ID NO: 10之肽及HLA-A*02:01之複合體、包含SEQ ID NO: 13之肽及HLA-A*02:01之複合體及包含SEQ ID NO: 14之肽及HLA-A*02:01之複合體中之每一者)；v)包含具有SEQ ID NO: 7、9、10、12、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者(亦即包含SEQ ID NO: 7之肽及HLA-A*02:01之複合體、包含SEQ ID NO: 9之肽及HLA-A*02:01之複合體、包含SEQ ID NO: 10之肽及HLA-A*02:01之複合體、包含SEQ ID NO: 12之肽及HLA-A*02:01之複合體、包含SEQ ID NO: 13之肽及HLA-A*02:01之複合體及包含SEQ ID NO: 14之肽及HLA-A*02:01之複合體中之每一者)；或vi)包含具有SEQ ID NO: 7、9、11、12、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者(亦即包含SEQ ID NO: 7之肽及HLA-A*02:01之複合體、包含SEQ ID NO: 9之肽及HLA-A*02:01之複合體、包含SEQ ID NO: 11之肽及HLA-A*02:01之複合體、包含SEQ ID NO: 12之肽及HLA-A*02:01之複合體、包含SEQ ID NO: 13之肽及HLA-A*02:01之複合體及包含SEQ ID NO: 14之肽及HLA-A*02:01之複合體中之每一者)；及b) Fc區。在一些實施例中，Fc區包含IgG1 Fc序列。在一些實施例中，Fc區包含人類IgG1 Fc序列。在一些實施例中，Fc區包含小鼠IgG1 Fc序列。

在一些實施例中，提供包含以下之全長抗EMC抗體：a)特異性結合於包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之複合體的抗EMC抗體部分，其中抗EMC抗體部分與以下者交叉反應：i)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02及HLA-A*02:06中的任一者之複合體中之每一者(亦即包含SEQ ID NO: 4之肽

及HLA-A*02:02之複合體及包含SEQ ID NO: 4之肽及HLA-A*02:06之複合體中之每一者)；ii)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及及HLA-A*02:02、HLA-A*02:03及HLA-A*02:06中的任一者之複合體中之每一者(亦即包含SEQ ID NO: 4之肽及HLA-A*02:02之複合體、包含SEQ ID NO: 4之肽及HLA-A*02:03之複合體及包含SEQ ID NO: 4之肽及HLA-A*02:06之複合體中之每一者)；iii)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及及HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:05及HLA-A*02:06中的任一者之複合體中之每一者(亦即包含SEQ ID NO: 4之肽及HLA-A*02:02之複合體、包含SEQ ID NO: 4之肽及HLA-A*02:03之複合體、包含SEQ ID NO: 4之肽及HLA-A*02:05之複合體及包含SEQ ID NO: 4之肽及HLA-A*02:06之複合體中之每一者)；或iv)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及及HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:05、HLA-A*02:06及HLA-A*02:11中的任一者之複合體中之每一者(亦即包含SEQ ID NO: 4之肽及HLA-A*02:02之複合體、包含SEQ ID NO: 4之肽及HLA-A*02:03之複合體、包含SEQ ID NO: 4之肽及HLA-A*02:05之複合體、包含SEQ ID NO: 4之肽及HLA-A*02:06之複合體及包含SEQ ID NO: 4之肽及HLA-A*02:11之複合體中之每一者)；及b)Fc區。在一些實施例中，抗EMC抗體部分不結合至包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:07之複合體。在一些實施例中，Fc區包含IgG1 Fc序列。在一些實施例中，Fc區包含人類IgG1 Fc序列。在一些實施例中，Fc區包含小鼠IgG1 Fc序列。

在一些實施例中，提供包含以下之全長抗EMC構築體：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗EMC抗體部分，該抗體部分包含：i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 95之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2

或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 96或97之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 98之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 99之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 100之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及b) Fc區。在一些實施例中，Fc區包含IgG1 Fc序列。在一些實施例中，Fc區包含人類IgG1 Fc序列。在一些實施例中，Fc區包含小鼠IgG1 Fc序列。

在一些實施例中，提供包含以下之全長抗EMC抗體：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗EMC抗體部分，該抗體部分包含i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 95之胺基酸序列，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 96或97之胺基酸序列，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 98之胺基酸序列；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 99之胺基酸序列，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 100之胺基酸序列，及b) Fc區。在一些實施例中，Fc區包含IgG1 Fc序列。在一些實施例中，Fc區包含人類IgG1 Fc序列。在一些實施例中，Fc區包含小鼠IgG1 Fc序列。

在一些實施例中，提供全長抗EMC構築體，其包含a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗EMC抗體部分，該抗體部分包含：i)重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約

1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約3(如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體。在一些實施例中，Fc區包含IgG1 Fc序列。在一些實施例中，Fc區包含人類IgG1 Fc序列。在一些實施例中，Fc區包含小鼠IgG1 Fc序列。

在一些實施例中，提供全長抗EMC構築體，其包含a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗EMC抗體部分，該抗體部分包含：i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列；或包含至多約5個HC-CDR序列中之胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域序列，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列；或包含LC-CDR序列中

之至多約5個胺基酸取代之其變異體；及b)Fc區。在一些實施例中，Fc區包含IgG1 Fc序列。在一些實施例中，Fc區包含人類IgG1 Fc序列。在一些實施例中，Fc區包含小鼠IgG1 Fc序列。

在一些實施例中，提供包含以下之全長抗EMC抗體：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之抗EMC抗體部分，該抗體部分包含i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列；及ii)輕鏈可變域序列，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列；及b) Fc區。在一些實施例中，Fc區包含IgG1 Fc序列。在一些實施例中，Fc區包含人類IgG1 Fc序列。在一些實施例中，Fc區包含小鼠IgG1 Fc序列。

在一些實施例中，提供包含以下之全長抗EMC抗體：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之抗EMC抗體部分，該抗體部分包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 16-34中的任一者之胺基酸序列，或具有至少約95%(例如至少約96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 36-50中的任一者之胺基酸序列，或具有至少約95%序列一致性之其變異體；及b) Fc區。在一些實施例中，Fc區包含IgG1 Fc序列。在一些實施例中，Fc區包含人類IgG1 Fc序列。在一些實施例中，Fc區包含小鼠IgG1 Fc序列。

在一些實施例中，提供包含以下之全長抗EMC抗體：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之抗EMC抗體部

分，該抗體部分包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 16-34中的任一者之胺基酸序列，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 36-50中的任一者之胺基酸序列；及b) Fc區。在一些實施例中，Fc區包含IgG1 Fc序列。在一些實施例中，Fc區包含人類IgG1 Fc序列。在一些實施例中，Fc區包含小鼠IgG1 Fc序列。

在一些實施例中，全長抗EMC抗體結合至包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體，結合之 K_d 在約0.1 pM至約500 nM之間(如約0.1 pM、1.0 pM、10 pM、50 pM、100 pM、500 pM、1 nM、10 nM、50 nM、100 nM或500 nM中的任一者，包括此等值之間的任何範圍)。在一些實施例中，全長抗EMC抗體結合至包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體，結合之 K_d 在約1 pM至約250 pM之間(如約1、10、25、50、75、100、150、200或250 pM中的任一者，包括此等值之間的任何範圍)。

多特異性抗EMC分子

在一些實施例中，抗EMC構築體包含多特異性抗EMC分子，其包含抗EMC抗體部分及第二結合部分(如第二抗原結合部分)。在一些實施例中，多特異性抗EMC分子包含抗EMC抗體部分及第二抗原結合部分。

多特異性分子為對於至少兩種不同抗原或抗原決定基具有結合特異性的分子(例如雙特異性抗體對兩種抗原或抗原決定基具有結合特異性)。亦涵蓋具有超過兩個價及/或特異性之多特異性分子。舉例而言，可製備三特異性抗體。Tutt等人 *J. Immunol.* 147: 60 (1991)。應瞭解，熟習此項技術者可選擇本文所述之個別多特異性分子之適當特徵以彼此組合而形成本發明之多特異性抗EMC分子。

因此，舉例而言，在一些實施例中，提供包含以下之多特異性(例如雙特異性)抗EMC分子：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC

I類蛋白質之複合體之抗EMC抗體部分，及b)第二結合部分(如抗原結合部分)。在一些實施例中，第二結合部分特異性結合於包含結合至MHC I類蛋白質之不同NY-ESO-1肽之複合體。在一些實施例中，第二scFv特異性結合於包含結合至不同MHC I類蛋白質之NY-ESO-1肽之複合體。在一些實施例中，第二結合部分特異性結合於包含結合至MHC I類蛋白質之NY-ESO-1肽之複合體上的不同抗原決定基。在一些實施例中，第二結合部分特異性結合於不同抗原。在一些實施例中，第二結合部分特異性結合於細胞，如細胞毒性細胞表面上之抗原。在一些實施例中，第二結合部分特異性結合於淋巴細胞，如T細胞、NK細胞、中性粒細胞、單核細胞、巨噬細胞或樹突狀細胞表面上之抗原。在一些實施例中，第二結合部分特異性結合於效應T細胞，如細胞毒性T細胞(亦稱為細胞毒性T淋巴細胞(CTL)或T殺手細胞)。

在一些實施例中，提供包含以下之多特異性抗EMC分子：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之抗EMC抗體部分，及b)特異性結合於CD3之第二抗原結合部分。在一些實施例中，第二抗原結合部分特異性結合於CD3 ϵ 。在一些實施例中，第二抗原結合部分特異性結合於CD3 ϵ 之促效抗原決定基。如本文所用，術語「促效抗原決定基」意指(a)當結合多特異性分子時，視情況當結合相同細胞上之若干多特異性分子時，允許該等多特異性分子活化TCR信號傳導且誘導T細胞活化之抗原決定基，及/或(b)僅由CD3之 ϵ 鏈之胺基酸殘基組成且當以自然情境呈現於T細胞上(亦即由TCR、CD3 γ 鏈等圍繞)時，對於經多特異性分子結合為可及的抗原決定基，及/或(c)當結合多特異性分子時，不導致CD3 ϵ 相對於CD3 γ 之空間位置穩定化之抗原決定基。

在一些實施例中，提供包含以下之多特異性抗EMC分子：a)特異

性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之抗EMC抗體部分，及b)特異性結合於效應細胞，包括例如CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD28、CD16a、CD56、CD68及GDS2D表面上之抗原之第二抗原結合部分。

在一些實施例中，提供包含以下之多特異性抗EMC分子：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之抗EMC抗體部分，及b)特異性結合於補體系統之組分，如C1q之第二抗原結合部分。C1q為活化血清補體系統之C1酶複合體之次單元。

在一些實施例中，第二抗原結合部分特異性結合於Fc受體。在一些實施例中，第二抗原結合部分特異性結合於Fc γ 受體(Fc γ R)。Fc γ R可為存在於自然殺手(NK)細胞表面上之Fc γ RIII或存在於巨噬細胞、單核細胞、嗜中性白血球及/或樹突狀細胞表面上之Fc γ RI、Fc γ RIIA、Fc γ RIIB1、Fc γ RIIB2及Fc γ RIIB中之一者。在一些實施例中，第二抗原結合部分為Fc區或其功能片段。如在此上下文中所使用之「功能片段」係指仍能夠以足夠特異性及親和力結合至FcR，特定言之Fc γ R以允許攜帶Fc γ R之效應細胞，特定言之巨噬細胞、單核細胞、中性粒細胞及/或樹突狀細胞藉由細胞毒性溶解或噬菌作用殺死靶細胞之抗體Fc區片段。功能性Fc片段能夠競爭性地抑制初始、全長Fc部分與諸如活化Fc γ RI之FcR的結合。在一些實施例中，功能性Fc片段保持至少30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或95%其與活化Fc γ R之親和力。在一些實施例中，Fc區或其功能片段為增強型Fc區或其功能片段。如本文所用，術語「增強型Fc區」係指經修飾以增強Fc受體介導之效應功能，特定言之抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)、補體依賴性細胞毒性(CDC)及抗體介導之噬菌作用之Fc區。此可如此項技術中已知地實現，例如藉由以導致活化受體(例如表現於自然殺手(NK)細胞上之Fc γ RIIA(CD16A))增加之親和力及/或與抑

制受體(例如FcγRIIB1/B2(CD32B))減少之結合的方式更改Fc區。在其他實施例中，第二抗原結合部分為抗體或其抗原結合片段，其以足夠特異性及親和力特異性結合於FcR，尤其結合於FcγR以允許攜有FcγR之效應細胞，特定言之巨噬細胞、單核細胞、中性粒細胞及/或樹突狀細胞藉由細胞毒性溶解或噬菌作用殺死靶細胞。

在一些實施例中，多特異性抗EMC分子允許殺死EMC呈遞靶細胞及/或可有效地重定向CTL以溶解EMC呈遞靶細胞。在一些實施例中，本發明之多特異性(例如雙特異性)抗EMC分子顯示介於10至500 ng/ml範圍內的活體外EC₅₀，且能夠在約1:1至約50:1 (如約1:1至約15:1，或約2:1至約10:1)的CTL與靶細胞之比下經由CTL誘導約50%靶細胞之重定向溶解。

在一些實施例中，多特異性(例如雙特異性)抗EMC分子能夠交聯經刺激或未刺激之CTL及靶細胞，以此方式使得靶細胞溶解。此提供如下優勢：不產生靶特異性T細胞純系或不需要藉由樹突狀細胞之共同抗原呈遞以使得多特異性抗EMC分子發揮其所需活性。在一些實施例中，本發明之多特異性抗EMC分子能夠重定向CTL以在不存在其他活化信號的情況下溶解靶細胞。在一些實施例中，多特異性抗EMC分子之第二抗原結合部分特異性結合於CD3 (例如特異性結合於CD3ε)，且不需要經由CD28及/或IL-2之信號傳導來重定向CTL以溶解靶細胞。

量測多特異性抗EMC分子同時結合至兩個抗原(例如兩種不同細胞上之抗原)之偏好的方法在熟習此項技術者之正常能力內。舉例而言，當第二結合部分特異性結合於CD3時，多特異性抗EMC分子可與CD3⁺/NY-ESO-1⁻細胞及CD3⁻/NY-ESO-1⁺細胞之混合物接觸。多特異性抗EMC分子陽性單細胞之數量及藉由多特異性抗EMC分子交聯之細胞之數量可接著藉由此項技術中已知之顯微術或螢光活化細胞分選

(FACS)評估。

舉例而言，在一些實施例中，提供包含以下之多特異性抗EMC分子：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之抗EMC抗體部分，及b)第二抗原結合部分。在一些實施例中，NY-ESO-1肽為NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A02。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A*02:01。在一些實施例中，第二抗原結合部分特異性結合於包含結合至MHC I類蛋白質之不同NY-ESO-1肽之複合體。在一些實施例中，第二抗原結合部分特異性結合於包含結合至不同MHC I類蛋白質之NY-ESO-1肽之複合體。在一些實施例中，第二抗原結合部分特異性結合於包含結合至MHC I類蛋白質之NY-ESO-1肽之複合體上的不同抗原決定基。在一些實施例中，第二抗原結合部分特異性結合於另一抗原。在一些實施例中，第二抗原結合部分特異性結合於細胞，如EMC呈遞細胞表面上之抗原。在一些實施例中，第二抗原結合部分特異性結合於不呈遞NY-ESO-1之細胞表面上之抗原。在一些實施例中，第二抗原結合部分特異性結合於細胞毒性細胞表面上之抗原。在一些實施例中，第二抗原結合部分特異性結合於淋巴細胞，如T細胞、NK細胞、中性粒細胞、單核細胞、巨噬細胞或樹突狀細胞表面上之抗原。在一些實施例中，第二抗原結合部分特異性結合於效應T細胞，如細胞毒性T細胞表面上之抗原。在一些實施例中，第二抗原結合部分特異性結合於效應細胞，包括例如CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD28、CD16a、CD56、CD68及GDS2D表面上之抗原。在一些實施例中，抗EMC抗體部分為人類、人類化或半合成的。在一些實施例中，第二抗原結合部分為抗體部分。在一些實施例中，第二抗原結合部分為人類、人類化或半合成抗體部分。在一些實施例中，多特異性抗EMC分子進一步包含至少一種(如至少約2、3、4、5或大於5種

中的任一者)額外抗原結合部分。

在一些實施例中，提供包含以下之多特異性抗EMC分子：a)特異性結合於包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之複合體之抗EMC抗體部分，及b)第二抗原結合部分。在一些實施例中，抗EMC抗體部分與至少一個(如至少2、3、4、5或6個中的任一者)包含MHC I類蛋白質及具有一個胺基酸取代(如保守胺基酸取代)之NY-ESO-1肽之變異體之複合體交叉反應。在一些實施例中，抗EMC抗體部分與至少一個(如至少2、3、4或5個中的任一者)包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之不同亞型之複合體交叉反應。

舉例而言，在一些實施例中，提供包含以下之多特異性抗EMC分子：a)特異性結合於包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之複合體的抗EMC抗體部分，其中抗EMC抗體部分與以下者交叉反應：i)包含具有SEQ ID NO: 7或9之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；ii)包含具有SEQ ID NO: 7、10及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；iii)包含具有SEQ ID NO: 7、9、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；iv)包含具有SEQ ID NO: 7、9、10、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；v)包含具有SEQ ID NO: 7、9、10、12、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；或vi)包含具有SEQ ID NO: 7、9、11、12、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；及b)第二抗原結合部分。

在一些實施例中，提供包含以下之多特異性抗EMC分子：a)特異性結合於包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之

複合體的抗EMC抗體部分，其中抗EMC抗體部分與以下者交叉反應：i)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02及HLA-A*02:06中的任一者之複合體中之每一者；ii)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02、HLA-A*02:03及HLA-A*02:06中的任一者之複合體中之每一者；iii)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:05及HLA-A*02:06中的任一者之複合體中之每一者；或iv)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:05、HLA-A*02:06及HLA-A*02:11中的任一者之複合體中之每一者；及b)第二抗原結合部分。在一些實施例中，抗EMC抗體部分不結合至包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:07之複合體。

在一些實施例中，提供包含以下之多特異性抗EMC分子：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗EMC抗體部分，該抗體部分包含：i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 95之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 96或97之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 98之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 99之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 100之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及b) 第二抗原結合部分。

在一些實施例中，提供包含以下之多特異性抗EMC分子：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗EMC抗體部分，該抗體部分包含i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 95之胺基酸序列，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 96或97之胺基酸序列，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 98之胺基酸序列；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 99之胺基酸序列，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 100之胺基酸序列，及b)第二抗原結合部分。

在一些實施例中，提供包含以下之多特異性抗EMC分子：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗EMC抗體部分，該抗體部分包含：i)重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約3(如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及b) 第二抗原結合部分。

在一些實施例中，提供包含以下之多特異性抗EMC分子：a)特異

性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗EMC抗體部分，該抗體部分包含：i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列；或包含至多約5個HC-CDR序列中之胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域序列，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列；或包含LC-CDR序列中之至多約5個胺基酸取代之其變異體；及b)第二抗原結合部分。

在一些實施例中，提供包含以下之多特異性抗EMC分子：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之抗EMC抗體部分，該抗體部分包含i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列；及ii)輕鏈可變域序列，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列；及b)第二抗原結合部分。

在一些實施例中，提供包含以下之多特異性抗EMC分子：a)抗EMC抗體部分，該抗體部分包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 16-34中的任一者之胺基酸序列，或具有至少約95%(例如至少約96%、

97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 36-50中的任一者之胺基酸序列，或具有至少約95%序列一致性之其變異體；及b)第二scFv。

在一些實施例中，提供包含以下之多特異性抗EMC分子：a)抗EMC抗體部分，該抗體部分包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 16-34中的任一者之胺基酸序列，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 36-50中的任一者之胺基酸序列；及b)第二抗原結合部分。

在一些實施例中，多特異性抗EMC分子為例如雙功能抗體(Db)、單鏈雙功能抗體(scDb)、串聯scDb(Tandab)、線性二聚scDb(LD-scDb)、圓形二聚scDb(CD-scDb)、二-雙功能抗體、串聯scFv、串聯二-scFv(例如雙特異性T細胞接合分子)、串聯三-scFv、三功能抗體、雙特異性Fab2、二-微型抗體、四功能抗體、scFv-Fc-scFv融合體、雙親和力再靶向(DART)抗體、雙可變域(DVD)抗體、IgG-scFab、scFab-ds-scFv、Fv2-Fc、IgG-scFv融合體、塙鎖(dock and lock；DNL)抗體、杵-臼(knob-into-hole；KiH)抗體(藉由KiH技術製備之雙特異性IgG)、DuoBody(藉由Duobody技術製備之雙特異性IgG)、雜多聚體抗體或異結合物抗體。在一些實施例中，多特異性抗EMC分子為串聯scFv(例如串聯二-scFv，如雙特異性T細胞接合分子)。

串聯scFv

在一些實施例中，多特異性抗EMC分子為串聯scFv，其包含含抗EMC抗體部分之第一scFv及第二scFv(在本文中亦稱為「串聯scFv多特異性抗EMC抗體」)。在一些實施例中，串聯scFv多特異性抗EMC抗體進一步包含至少一個(如至少約2、3、4、5或大於5個中的任一者)額外scFv。

在一些實施例中，提供包含以下之串聯scFv多特異性(例如雙特異性)抗EMC抗體：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白

質之複合體之第一scFv，及b)第二scFv。在一些實施例中，NY-ESO-1肽為NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A02。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A*02:01。在一些實施例中，第二scFv特異性結合於包含與MHC I類蛋白質結合之不同NY-ESO-1肽之複合體。在一些實施例中，第二scFv特異性結合於包含結合至不同MHC I類蛋白質之NY-ESO-1肽之複合體。在一些實施例中，第二scFv特異性結合於包含結合至MHC I類蛋白質之NY-ESO-1肽之複合體上的不同抗原決定基。在一些實施例中，第二scFv特異性結合於另一抗原。在一些實施例中，第二scFv特異性結合於細胞，如EMC呈遞細胞表面上之抗原。在一些實施例中，第二scFv特異性結合於不呈遞NY-ESO-1之細胞表面上之抗原。在一些實施例中，第二scFv特異性結合於細胞毒性細胞表面上之抗原。在一些實施例中，第二scFv特異性結合於淋巴細胞，如T細胞、NK細胞、中性粒細胞、單核細胞、巨噬細胞或樹突狀細胞表面上之抗原。在一些實施例中，第二scFv特異性結合於效應T細胞，如細胞毒性T細胞表面上之抗原。在一些實施例中，第二scFv特異性結合於效應細胞，包括例如CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD28、CD16a、CD56、CD68及GDS2D表面上之抗原。在一些實施例中，第一scFv為人類、人類化或半合成的。在一些實施例中，第二scFv為人類、人類化或半合成的。在一些實施例中，第一scFv及第二scFv均為人類、人類化或半合成的。在一些實施例中，串聯scFv多特異性抗EMC抗體進一步包含至少一個(如至少約2、3、4、5或大於5個中的任一者)額外scFv。

在一些實施例中，提供包含以下之串聯scFv多特異性(例如雙特異性)抗EMC抗體：a)特異性結合於包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之複合體的第一scFv，及b)第二scFv。在一些實施例中，第一scFv與至少一個(如至少2、3、4、5或6個中的任一者)

包含MHC I類蛋白質及具有一個胺基酸取代(如保守胺基酸取代)之NY-ESO-1肽之變異體之複合體交叉反應。在一些實施例中，第一scFv與至少一個(如至少2、3、4或5個中的任一者)包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之不同亞型之複合體交叉反應。

舉例而言，在一些實施例中，提供包含以下之串聯scFv多特異性(例如雙特異性)抗EMC抗體：a)特異性結合於包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之複合體的第一scFv，其中第一scFv與以下者交叉反應：i)包含具有SEQ ID NO: 7或9之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；ii)包含具有SEQ ID NO: 7、10及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；iii)包含具有SEQ ID NO: 7、9、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；iv)包含具有SEQ ID NO: 7、9、10、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；v)包含具有SEQ ID NO: 7、9、10、12、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；或vi)包含具有SEQ ID NO: 7、9、11、12、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；及b)第二scFv。

在一些實施例中，提供包含以下之串聯scFv多特異性(例如雙特異性)抗EMC抗體：a)特異性結合於包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之複合體的第一scFv，其中第一scFv與以下者交叉反應：i)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02及HLA-A*02:06中的任一者之複合體中之每一者；ii)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02、HLA-A*02:03及HLA-A*02:06中的任一者之複合體中之每一者；iii)包含NY-ESO-1 157-165

肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:05及HLA-A*02:06中的任一者之複合體中之每一者；或iv)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:05、HLA-A*02:06及HLA-A*02:11中的任一者之複合體中之每一者；及b)第二scFv。在一些實施例中，第一scFv不結合至包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:07之複合體。

在一些實施例中，提供串聯scFv多特異性(例如雙特異性)抗EMC抗體，其包含a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的第一scFv，該第一scFv包含：i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 95之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 96或97之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 98之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 99之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 100之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及b) 第二scFv。

在一些實施例中，提供包含以下之串聯scFv多特異性(例如雙特異性)抗EMC抗體：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的第一scFv，該第一scFv包含i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 95之胺基酸序列，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 96或97之胺基酸序列，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 98之胺基酸序列；及ii)輕鏈可變

域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 99之胺基酸序列，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 100之胺基酸序列，及b)第二scFv。

在一些實施例中，提供包含以下之串聯scFv多特異性(例如雙特異性)抗EMC抗體：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的第一scFv，該第一scFv包含：i)重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約3(如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及b) 第二scFv。

在一些實施例中，提供包含以下之串聯scFv多特異性(例如雙特異性)抗EMC抗體：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的第一scFv，該第一scFv包含：i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中

的任一者之胺基酸序列；或包含至多約5個HC-CDR序列中之胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域序列，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列；或包含LC-CDR序列中之至多約5個胺基酸取代之其變異體；及b)第二scFv。

在一些實施例中，提供包含以下之串聯scFv多特異性(例如雙特異性)抗EMC抗體：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之第一scFv，該第一scFv包含i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列；及ii)輕鏈可變域序列，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列；及b)第二scFv。

在一些實施例中，提供包含以下之串聯scFv多特異性(例如雙特異性)抗EMC抗體：a)第一scFv，該第一scFv包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 16-34中的任一者之胺基酸序列，或具有至少約95%(例如至少約96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 36-50中的任一者之胺基酸序列，或具有至少約95%序列一致性之其變異體；及b)第二scFv。

在一些實施例中，提供包含以下之串聯scFv多特異性(例如雙特異性)抗EMC抗體：a)第一scFv，該第一scFv包含重鏈可變域，其包含

SEQ ID NO: 16-34中的任一者之胺基酸序列，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 36-50中的任一者之胺基酸序列；及b)第二scFv。

在一些實施例中，提供包含以下之串聯scFv多特異性(例如雙特異性)抗EMC抗體：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的第一scFv，及b)第二scFv，其中串聯scFv多特異性抗EMC抗體為串聯二-scFv或串聯三-scFv。在一些實施例中，串聯scFv多特異性抗EMC抗體為串聯二-scFv。在一些實施例中，串聯scFv多特異性抗EMC抗體為雙特異性T細胞接合分子。

舉例而言，在一些實施例中，提供包含以下之串聯二-scFv雙特異性抗EMC抗體：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之第一scFv，及b)特異性結合於T細胞表面上之抗原之第二scFv。在一些實施例中，NY-ESO-1肽為NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A02。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A*02:01。在一些實施例中，第二scFv特異性結合於效應T細胞，如細胞毒性T細胞表面上之抗原。在一些實施例中，第二scFv特異性結合於選自例如由以下組成之群的抗原：CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD28、OX40、GITR、CD137、CD27、CD40L及HVEM。在一些實施例中，第二scFv特異性結合於T細胞表面上之抗原上之促效抗原決定基，其中第二scFv與抗原之結合增強T細胞活化。在一些實施例中，第一scFv為人類、人類化或半合成的。在一些實施例中，第二scFv為人類、人類化或半合成的。在一些實施例中，第一scFv及第二scFv均為人類、人類化或半合成的。

在一些實施例中，提供包含以下之串聯二-scFv雙特異性抗EMC抗體：a)特異性結合於包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之複合體之第一scFv，及b)特異性結合於T細胞表面上之抗原之第二scFv。

在一些實施例中，提供包含以下之串聯二-scFv雙特異性抗EMC抗體：a)特異性結合於包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之複合體的第一scFv，其中第一scFv與以下者交叉反應：i)包含具有SEQ ID NO: 7或9之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；ii)包含具有SEQ ID NO: 7、10及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；iii)包含具有SEQ ID NO: 7、9、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；iv)包含具有SEQ ID NO: 7、9、10、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；v)包含具有SEQ ID NO: 7、9、10、12、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；或vi)包含具有SEQ ID NO: 7、9、11、12、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；及b)特異性結合於T細胞表面上之抗原的第二scFv。

在一些實施例中，提供包含以下之串聯二-scFv雙特異性抗EMC抗體：a)特異性結合於包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之複合體的第一scFv，其中第一scFv與以下者交叉反應：i)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02及HLA-A*02:06中的任一者之複合體中之每一者；ii)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02、HLA-A*02:03及HLA-A*02:06中的任一者之複合體中之每一者；iii)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:05及HLA-A*02:06中的任一者之複合體中之每一者；或iv)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-

A*02:05、HLA-A*02:06及HLA-A*02:11中的任一者之複合體中之每一者；及b)特異性結合於T細胞表面上之抗原的第二scFv。在一些實施例中，第一scFv不結合至包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:07之複合體。

在一些實施例中，提供包含以下之串聯二-scFv雙特異性抗EMC抗體：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之第一scFv，該第一scFv包含：i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 95之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 96或97之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 98之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 99之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 100之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及b)特異性結合於T細胞表面上之抗原的第二scFv。

在一些實施例中，提供包含以下之串聯二-scFv雙特異性抗EMC抗體：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的第一scFv，該第一scFv包含i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 95之胺基酸序列，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 96或97之胺基酸序列，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 98之胺基酸序列；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 99之胺基酸序列，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 100之胺基酸序列，及b)特異性結合於T

細胞表面上之抗原之第二scFv。

在一些實施例中，提供包含以下之串聯二-scFv雙特異性抗EMC抗體：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的第一scFv，該第一scFv包含：i)重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約3(如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及b) 特異性結合於T細胞表面上之抗原的第二scFv。

在一些實施例中，提供包含以下之串聯二-scFv雙特異性抗EMC抗體：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之第一scFv，該第一scFv包含i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列；或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個HC-

CDR序列中之胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域序列，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列；或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個LC-CDR序列中之胺基酸取代之其變異體；及b)特異性結合於T細胞表面上之抗原的第二scFv。

在一些實施例中，提供包含以下之串聯二-scFv雙特異性抗EMC抗體：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之第一scFv，該第一scFv包含i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列；及ii)輕鏈可變域序列，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列；及b)特異性結合於T細胞表面上之抗原之第二scFv。

在一些實施例中，提供包含以下之串聯二-scFv雙特異性抗EMC抗體：a)第一scFv，該第一scFv包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 16-34中的任一者之胺基酸序列，或具有至少約95%(例如至少約96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 36-50中的任一者之胺基酸序列，或具有至少約95%(例如至少約96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體，及b)特異性結合於T細胞表面上之抗原之第二scFv。

在一些實施例中，提供包含以下之串聯二-scFv雙特異性抗EMC

抗體：a)第一scFv，該第一scFv包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 16-34中的任一者之胺基酸序列，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 36-50中的任一者之胺基酸序列，及b)特異性結合於T細胞表面上之抗原之第二scFv。

在一些實施例中，提供包含以下之串聯二-scFv雙特異性抗EMC抗體：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之第一scFv，及b)特異性結合於CD3 ϵ 之第二scFv。在一些實施例中，NY-ESO-1肽為NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A02。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A*02:01。在一些實施例中，第一scFv經由與肽連接子之鍵聯融合至第二scFv。在一些實施例中，肽連接子之長度在約5至約20(如約5、10、15或20中的任一者，包括此等值之間的任何範圍)個胺基酸之間。在一些實施例中，肽連接子包含胺基酸序列GGGGS(且在一些實施例中由其組成)。在一些實施例中，第一scFv為人類、人類化或半合成的。在一些實施例中，第二scFv為人類、人類化或半合成的。在一些實施例中，第一scFv及第二scFv均為人類、人類化或半合成的。

在一些實施例中，提供包含以下之串聯二-scFv雙特異性抗EMC抗體：a)特異性結合於包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之複合體的第一scFv，及b)特異性結合於CD3 ϵ 之第二scFv。在一些實施例中，第一scFv經由與肽連接子之鍵聯融合至第二scFv。在一些實施例中，肽連接子之長度在約5至約20(如約5、10、15或20中的任一者，包括此等值之間的任何範圍)個胺基酸之間。在一些實施例中，肽連接子包含胺基酸序列GGGGS(且在一些實施例中由其組成)。在一些實施例中，第一scFv為人類、人類化或半合成的。在一些實施例中，第二scFv為人類、人類化或半合成的。在一些

實施例中，第一scFv及第二scFv均為人類、人類化或半合成的。

在一些實施例中，提供包含以下之串聯二-scFv雙特異性抗EMC抗體：a)特異性結合於包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之複合體的第一scFv，其中第一scFv與以下者交叉反應：i)包含具有SEQ ID NO: 7或9之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；ii)包含具有SEQ ID NO: 7、10及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；iii)包含具有SEQ ID NO: 7、9、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；iv)包含具有SEQ ID NO: 7、9、10、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；v)包含具有SEQ ID NO: 7、9、10、12、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；或vi)包含具有SEQ ID NO: 7、9、11、12、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；及b)特異性結合於CD3 ϵ 之第二scFv。在一些實施例中，第一scFv經由與肽連接子之鍵聯融合至第二scFv。在一些實施例中，肽連接子之長度在約5至約20(如約5、10、15或20中的任一者，包括此等值之間的任何範圍)個胺基酸之間。在一些實施例中，肽連接子包含胺基酸序列GGGGS(且在一些實施例中由其組成)。在一些實施例中，第一scFv為人類、人類化或半合成的。在一些實施例中，第二scFv為人類、人類化或半合成的。在一些實施例中，第一scFv及第二scFv均為人類、人類化或半合成的。

在一些實施例中，提供包含以下之串聯二-scFv雙特異性抗EMC抗體：a)特異性結合於包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之複合體的第一scFv，其中第一scFv與以下者交叉反

應：i)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02及HLA-A*02:06中的任一者之複合體中之每一者；ii)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02、HLA-A*02:03及HLA-A*02:06中的任一者之複合體中之每一者；iii)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:05及HLA-A*02:06中的任一者之複合體中之每一者；或iv)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:05、HLA-A*02:06及HLA-A*02:11中的任一者之複合體中之每一者；及b)特異性結合於CD3 ϵ 之第二scFv。在一些實施例中，第一scFv不結合至包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:07之複合體。在一些實施例中，第一scFv經由與肽連接子之鏈聯融合至第二scFv。在一些實施例中，肽連接子之長度在約5至約20(如約5、10、15或20中的任一者，包括此等值之間的任何範圍)個胺基酸之間。在一些實施例中，肽連接子包含胺基酸序列GGGGS(且在一些實施例中由其組成)。在一些實施例中，第一scFv為人類、人類化或半合成的。在一些實施例中，第二scFv為人類、人類化或半合成的。在一些實施例中，第一scFv及第二scFv均為人類、人類化或半合成的。

在一些實施例中，提供包含以下之串聯二-scFv雙特異性抗EMC抗體：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的第一scFv，該第一scFv包含：i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 95之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 96或97之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 98之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2

或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 99之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 100之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及b) 特異性結合於CD3 ϵ 之第二scFv。在一些實施例中，第一scFv經由與肽連接子之鍵聯融合至第二scFv。在一些實施例中，肽連接子之長度在約5至約20(如約5、10、15或20中的任一者，包括此等值之間的任何範圍)個胺基酸之間。在一些實施例中，肽連接子包含胺基酸序列GGGGS(且在一些實施例中由其組成)。在一些實施例中，第一scFv為人類、人類化或半合成的。在一些實施例中，第二scFv為人類、人類化或半合成的。在一些實施例中，第一scFv及第二scFv均為人類、人類化或半合成的。

在一些實施例中，提供包含以下之串聯二-scFv雙特異性抗EMC抗體：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的第一scFv，該第一scFv包含i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 95之胺基酸序列，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 96或97之胺基酸序列，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 98之胺基酸序列；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 99之胺基酸序列，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 100之胺基酸序列，及b)特異性結合於CD3 ϵ 之第二scFv。在一些實施例中，第一scFv經由與肽連接子之鍵聯融合至第二scFv。在一些實施例中，肽連接子之長度在約5至約20(如約5、10、15或20中的任一者，包括此等值之間的任何範圍)個胺基酸之間。在一些實施例中，肽連接子包含胺基酸序列GGGGS(且在一些實施例中由其組成)。在一些實施例中，第一scFv為人類、人類化或

半合成的。在一些實施例中，第二scFv為人類、人類化或半合成的。在一些實施例中，第一scFv及第二scFv均為人類、人類化或半合成的。

在一些實施例中，提供包含以下之串聯二-scFv雙特異性抗EMC抗體：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之第一scFv，該第一scFv包含i)重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域序列，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約3(如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及b)特異性結合於CD3 ϵ 之第二scFv。在一些實施例中，第一scFv經由與肽連接子之鍵聯融合至第二scFv。在一些實施例中，肽連接子之長度在約5至約20(如約5、10、15或20中的任一者，包括此等值之間的任何範圍)個胺基酸之間。在一些實施例中，肽連接子包含胺基酸序列GGGGS(且在一些實施例中由其組成)。在一些實施例中，第一scFv為人類、人類化或半合成的。在一些實施例中，第二scFv為人類、人類化或半合成的。在一些實施例中，第一scFv及第

二scFv均為人類、人類化或半合成的。

在一些實施例中，提供包含以下之串聯二-scFv雙特異性抗EMC抗體：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之第一scFv，該第一scFv包含i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列；或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個HC-CDR序列中之胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域序列，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列；或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個LC-CDR序列中之胺基酸取代之其變異體；及b)特異性結合於CD3 ϵ 之第二scFv。在一些實施例中，第一scFv經由與肽連接子之鏈聯融合至第二scFv。在一些實施例中，肽連接子之長度在約5至約20(如約5、10、15或20中的任一者，包括此等值之間的任何範圍)個胺基酸之間。在一些實施例中，肽連接子包含胺基酸序列GGGGS(且在一些實施例中由其組成)。在一些實施例中，第一scFv為人類、人類化或半合成的。在一些實施例中，第二scFv為人類、人類化或半合成的。在一些實施例中，第一scFv及第二scFv均為人類、人類化或半合成的。

在一些實施例中，提供包含以下之串聯二-scFv雙特異性抗EMC抗體：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之第一scFv，該第一scFv包含i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序

列；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列；及ii)輕鏈可變域序列，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列；及b)特異性結合於CD3 ϵ 之第二scFv。在一些實施例中，第一scFv經由與肽連接子之鍵聯融合至第二scFv。在一些實施例中，肽連接子之長度在約5至約20(如約5、10、15或20中的任一者，包括此等值之間的任何範圍)個胺基酸之間。在一些實施例中，肽連接子包含胺基酸序列GGGGS(且在一些實施例中由其組成)。在一些實施例中，第一scFv為人類、人類化或半合成的。在一些實施例中，第二scFv為人類、人類化或半合成的。在一些實施例中，第一scFv及第二scFv均為人類、人類化或半合成的。

在一些實施例中，提供包含以下之串聯二-scFv雙特異性抗EMC抗體：a)第一scFv，該第一scFv包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 16-34中的任一者之胺基酸序列，或具有至少約95%(例如至少約96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 36-50中的任一者之胺基酸序列，或具有至少約95%(例如至少約96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體，及b)特異性結合於CD3 ϵ 之第二scFv。在一些實施例中，第一scFv經由與肽連接子之鍵聯融合至第二scFv。在一些實施例中，肽連接子之長度在約5至約20(如約5、10、15或20中的任一者，包括此等值之間的任何範圍)個胺基酸之間。在一些實施例中，肽連接子包含胺基酸序列GGGGS(且在一些實施例中由其組成)。在一些實施例中，第一scFv為人類、人類化或半合成的。在一些實施例中，第二scFv為人類、人類化或半合成的。在一些實施例中，第一scFv及第二

scFv均為人類、人類化或半合成的。

在一些實施例中，提供包含以下之串聯二-scFv雙特異性抗EMC抗體：a)第一scFv，該第一scFv包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 16-34中的任一者之胺基酸序列，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 36-50中的任一者之胺基酸序列，及b)特異性結合於CD3 ϵ 之第二scFv。在一些實施例中，第一scFv經由與肽連接子之鏈聯融合至第二scFv。在一些實施例中，肽連接子之長度在約5至約20(如約5、10、15或20中的任一者，包括此等值之間的任何範圍)個胺基酸之間。在一些實施例中，肽連接子包含胺基酸序列GGGGS(且在一些實施例中由其組成)。在一些實施例中，第一scFv為人類、人類化或半合成的。在一些實施例中，第二scFv為人類、人類化或半合成的。在一些實施例中，第一scFv及第二scFv均為人類、人類化或半合成的。

在一些實施例中，串聯二-scFv雙特異性抗EMC抗體結合至包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體，結合之K_d在約0.1 pM至約500 nM之間(如約0.1 pM、1.0 pM、10 pM、50 pM、100 pM、500 pM、1 nM、10 nM、50 nM、100 nM或500 nM中的任一者，包括此等值之間的任何範圍)。在一些實施例中，串聯二-scFv雙特異性抗EMC抗體結合至包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體，結合之K_d在約1 nM至約500 nM之間(如約1、10、25、50、75、100、150、200、250、300、350、400、450或500 nM中的任一者，包括此等值之間的任何範圍)。

嵌合抗原受體(CAR)及CAR效應細胞

在一些實施例中，抗EMC構築體為包含抗EMC抗體部分之嵌合抗原受體(CAR)(在本文中亦稱為「抗EMC CAR」)。亦提供包含抗EMC抗體部分之CAR的CAR效應細胞(例如T細胞)(在本文中亦稱為「抗EMC CAR效應細胞」，例如，「抗EMC CAR T細胞」)。

抗EMC CAR包含a)細胞外域，其包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之抗EMC抗體部分，及b)胞內信號傳導域。跨膜域可存在於細胞外域與細胞內域之間。

在抗EMC CAR之細胞外域與跨膜域之間，或在抗EMC CAR之細胞內域與跨膜域之間，可存在間隔域。間隔域可為用於將多肽鏈中之跨膜域連接至細胞外域或細胞內域之任何寡肽或多肽。間隔域可包含至多約300個胺基酸，包括例如約10至約100，或約25至約50個胺基酸。

跨膜域可來源於天然來源或合成來源。在來源為天然時，該域可來源於任何膜結合蛋白或跨膜蛋白。特定用於本發明中之跨膜區可衍生自T細胞受體CD28、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137或CD154之 δ 、 β 、 δ 或 γ 鏈(亦即至少包含其跨膜區)。在一些實施例中，跨膜域可為合成的，在此情況下，其可主要包含疏水性殘基，如白胺酸及纈胺酸。在一些實施例中，在合成跨膜域之各端可發現苯丙胺酸、色胺酸及纈胺酸之三聯體。在一些實施例中，具有例如長度在約2與約10(如約2、3、4、5、6、7、8、9或10中的任一者)個胺基酸之間的長度之短寡肽或多肽連接子可在抗EMC CAR之跨膜域與胞內信號傳導域之間形成鍵。在一些實施例中，連接子為基於甘胺酸-絲胺酸二聯體。

在一些實施例中，使用自然地與抗EMC CAR之細胞內域中之序列中的一者相關之跨膜域(例如若抗EMC CAR細胞內域包含CD28共刺激序列，則抗EMC CAR之跨膜域衍生自CD28跨膜域)。在一些實施例中，跨膜域可藉由胺基酸取代選擇或修飾以避免此類域與相同或不同表面膜蛋白質之跨膜結構域結合以使得與受體複合體之其他成員之相互作用最小化。

抗EMC CAR之胞內信號傳導域造成免疫細胞(其中已置入抗EMC CAR)之正常效應功能中之至少一者之激活。T細胞之效應功能例如可為細胞溶解活性或輔助活性，包括分泌細胞因子。因此，術語「胞內信號傳導結構域」係指轉導效應功能信號及引導細胞執行特異性功能之蛋白質部分。儘管通常可採用全部胞內信號傳導結構域，但在多數情況下，不必使用整條鏈。至於使用胞內信號傳導結構域之截短部分的程度，此類截短部分只要轉導效應功能信號即可用於替代完整鏈。術語「胞內信號傳導序列」因此意欲包括足以轉導效應功能信號之胞內信號傳導域之任何截短部分。

用於本發明之抗EMC CAR中之胞內信號傳導域之實例包括共同起在抗原受體接合之後起始信號轉導作用之T細胞受體(TCR)及共受體之細胞質序列，以及此等序列之任何衍生物或變異體及具有相同功能能力之任何合成序列。

已知經由單獨的TCR產生之信號不足以完全活化T細胞且亦需要二級或共刺激信號。因此，T細胞活化可稱為藉由兩種相異類別之胞內信號傳導序列介導：經由TCR起始抗原依賴性一級活化之彼等(一級信號傳導序列)及以抗原獨立方式起作用以提供二級或共刺激信號之彼等(共刺激信號傳導序列)。

一級信號傳導序列以刺激方式或抑制方式調節TCR複合體之一級活化。以刺激方式起作用之一級信號傳導序列可含有信號傳導基元，稱為基於免疫受體酪胺酸之活化基元或ITAM。在一些實施例中，抗EMC CAR構築體包含一或多種ITAM。

特定用於本發明中之含有ITAM之一級信號傳導序列之實例包括衍生自TCR ζ 、FcR γ 、FcR β 、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD5、CD22、CD79a、CD79b及CD66d之彼等。

在一些實施例中，抗EMC CAR包含衍生自CD3 ζ 之一級信號傳導

序列。舉例而言，CAR之胞內信號傳導域可包含CD3 ζ 胞內信號傳導序列本身或與適用於本發明之抗EMC CAR之情形下之任何其他所需胞內信號傳導序列組合。舉例而言，抗EMC CAR之細胞內域可包含CD3 ζ 胞內信號傳導序列及共刺激信號傳導序列。共刺激信號傳導序列可共刺激分子之細胞內域的一部分，該共刺激分子包括例如CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30、CD40、PD-1、ICOS、淋巴細胞功能相關抗原-1 (LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、特異性結合CD83之配位體及其類似物。

在一些實施例中，抗EMC CAR之胞內信號傳導域包含CD3 ζ 之胞內信號傳導序列及CD28之胞內信號傳導序列。在一些實施例中，抗EMC CAR之胞內信號傳導域包含CD3 ζ 之胞內信號傳導序列及4-1BB之胞內信號傳導序列。在一些實施例中，抗EMC CAR之胞內信號傳導域包含CD3 ζ 之胞內信號傳導序列及CD28及4-1BB之胞內信號傳導序列。

因此，舉例而言，在一些實施例中，提供包含以下之抗EMC CAR：a)包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之抗EMC抗體部分的細胞外域，b)跨膜域，及c)胞內信號傳導域。在一些實施例中，NY-ESO-1肽為NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A02。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A*02:01。在一些實施例中，胞內信號傳導域能夠活化免疫細胞。在一些實施例中，胞內信號傳導域包含一級信號傳導序列及共刺激信號傳導序列。在一些實施例中，一級信號傳導序列包含CD3 ζ 胞內信號傳導序列。在一些實施例中，共刺激信號傳導序列包含CD28胞內信號傳導序列。在一些實施例中，細胞內域包含CD3 ζ 胞內信號傳導序列及CD28胞內信號傳導序列。

在一些實施例中，提供包含以下之抗EMC CAR：a)包含特異性

結合於包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之複合體之抗EMC抗體部分的細胞外域，b)跨膜域，及c)胞內信號傳導域。在一些實施例中，胞內信號傳導域能夠活化免疫細胞。在一些實施例中，胞內信號傳導域包含一級信號傳導序列及共刺激信號傳導序列。在一些實施例中，一級信號傳導序列包含CD3ζ胞內信號傳導序列。在一些實施例中，共刺激信號傳導序列包含CD28胞內信號傳導序列。在一些實施例中，胞內域包含CD3ζ胞內信號傳導序列及CD28胞內信號傳導序列。在一些實施例中，抗EMC抗體部分與至少一個(如至少2、3、4、5或6個中的任一者)包含MHC I類蛋白質及具有一個胺基酸取代(如保守胺基酸取代)之NY-ESO-1肽之變異體之複合體交叉反應。在一些實施例中，抗EMC抗體部分與至少一個(如至少2、3、4或5個中的任一者)包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之不同亞型之複合體交叉反應。

舉例而言，在一些實施例中，提供包含以下之抗EMC CAR：a)細胞外域，其包含特異性結合於包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之複合體的抗EMC抗體部分，其中抗EMC抗體部分與以下者交叉反應：i)包含具有SEQ ID NO: 7或9之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；ii)包含具有SEQ ID NO: 7、10及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；iii)包含具有SEQ ID NO: 7、9、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；iv)包含具有SEQ ID NO: 7、9、10、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；v)包含具有SEQ ID NO: 7、9、10、12、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；或vi)包含具有SEQ ID NO: 7、

9、11、12、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；b)跨膜域；及c)胞內信號傳導域。在一些實施例中，胞內信號傳導域能夠活化免疫細胞。在一些實施例中，胞內信號傳導域包含一級信號傳導序列及共刺激信號傳導序列。在一些實施例中，一級信號傳導序列包含CD3ζ胞內信號傳導序列。在一些實施例中，共刺激信號傳導序列包含CD28胞內信號傳導序列。在一些實施例中，胞內域包含CD3ζ胞內信號傳導序列及CD28胞內信號傳導序列。

在一些實施例中，提供包含以下之抗EMC CAR：a)細胞外域，其包含特異性結合於包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之複合體的抗EMC抗體部分，其中抗EMC抗體部分與以下者交叉反應：i)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02及HLA-A*02:06中的任一者之複合體中之每一者；ii)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02、HLA-A*02:03及HLA-A*02:06中的任一者之複合體中之每一者；iii)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:05及HLA-A*02:06中的任一者之複合體中之每一者；或iv)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:05、HLA-A*02:06及HLA-A*02:11中的任一者之複合體中之每一者；b)跨膜域；及c)胞內信號傳導域。在一些實施例中，抗EMC抗體部分不結合至包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:07之複合體。在一些實施例中，胞內信號傳導域能夠活化免疫細胞。在一些實施例中，胞內信號傳導域包含一級信號傳導序列及共刺激信號傳導序列。在一些實施例中，一級信號傳導序列包含CD3ζ胞內信號傳導序列。在一些實施例中，共刺激信號傳導序列包含CD28胞內信號傳導序列。在一些實施例中，胞內域包含CD3ζ胞內信

號傳導序列及CD28胞內信號傳導序列。

在一些實施例中，提供包含以下之抗EMC CAR：a)細胞外域，其包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗EMC抗體部分，該抗體部分包含：i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 95之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 96或97之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 98之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 99之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 100之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，b) 跨膜域，及c)胞內信號傳導域。在一些實施例中，胞內信號傳導域能夠活化免疫細胞。在一些實施例中，胞內信號傳導域包含一級信號傳導序列及共刺激信號傳導序列。在一些實施例中，一級信號傳導序列包含CD3ζ胞內信號傳導序列。在一些實施例中，共刺激信號傳導序列包含CD28胞內信號傳導序列。在一些實施例中，胞內域包含CD3ζ胞內信號傳導序列及CD28胞內信號傳導序列。

在一些實施例中，提供包含以下之抗EMC CAR：a)細胞外域，其包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗EMC抗體部分，該抗體部分包含i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 95之胺基酸序列，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 96或97之胺基酸序列，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 98之胺基酸序列；及ii)輕鏈可變域，其包

含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 99之胺基酸序列，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 100之胺基酸序列；b)跨膜域，及c)胞內信號傳導域。在一些實施例中，胞內信號傳導域能夠活化免疫細胞。在一些實施例中，胞內信號傳導域包含一級信號傳導序列及共刺激信號傳導序列。在一些實施例中，一級信號傳導序列包含CD3 ζ 胞內信號傳導序列。在一些實施例中，共刺激信號傳導序列包含CD28胞內信號傳導序列。在一些實施例中，胞內域包含CD3 ζ 胞內信號傳導序列及CD28胞內信號傳導序列。

在一些實施例中，提供包含以下之抗EMC CAR：i)細胞外域，其包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗EMC抗體部分，該抗體部分包含：i)重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約3(如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；b)跨膜域，及c)胞內信號傳導域。在一些實施例中，胞內信號傳導域能夠活化免疫細胞。在一些實施例中，

胞內信號傳導域包含一級信號傳導序列及共刺激信號傳導序列。在一些實施例中，一級信號傳導序列包含CD3 ζ 胞內信號傳導序列。在一些實施例中，共刺激信號傳導序列包含CD28胞內信號傳導序列。在一些實施例中，胞內域包含CD3 ζ 胞內信號傳導序列及CD28胞內信號傳導序列。

在一些實施例中，提供包含以下之抗EMC CAR：a)細胞外域，其包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之抗EMC抗體部分，該抗體部分包含i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列；或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個HC-CDR序列中之胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域序列，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列；或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個LC-CDR序列中之胺基酸取代之其變異體；b)跨膜域，及c)胞內信號傳導域。在一些實施例中，胞內信號傳導域能夠活化免疫細胞。在一些實施例中，胞內信號傳導域包含一級信號傳導序列及共刺激信號傳導序列。在一些實施例中，一級信號傳導序列包含CD3 ζ 胞內信號傳導序列。在一些實施例中，共刺激信號傳導序列包含CD28胞內信號傳導序列。在一些實施例中，胞內域包含CD3 ζ 胞內信號傳導序列及CD28胞內信號傳導序列。

在一些實施例中，提供包含以下之抗EMC CAR：a)細胞外域，其包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之

抗EMC抗體部分，該抗體部分包含i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列；及ii)輕鏈可變域序列，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列；b)跨膜域，及c)胞內信號傳導域。在一些實施例中，胞內信號傳導域能夠活化免疫細胞。在一些實施例中，胞內信號傳導域包含一級信號傳導序列及共刺激信號傳導序列。在一些實施例中，一級信號傳導序列包含CD3 ζ 胞內信號傳導序列。在一些實施例中，共刺激信號傳導序列包含CD28胞內信號傳導序列。在一些實施例中，胞內域包含CD3 ζ 胞內信號傳導序列及CD28胞內信號傳導序列。

在一些實施例中，提供包含以下之抗EMC CAR：a)細胞外域，其包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之抗EMC抗體部分，該抗體部分包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 16-34中的任一者之胺基酸序列，或具有至少約95%(例如至少約96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 36-50中的任一者之胺基酸序列，或具有至少約95%序列一致性之其變異體；b)跨膜域，及c)胞內信號傳導域。在一些實施例中，胞內信號傳導域能夠活化免疫細胞。在一些實施例中，胞內信號傳導域包含一級信號傳導序列及共刺激信號傳導序列。在一些實施例中，一級信號傳導序列包含CD3 ζ 胞內信號傳導序列。在一些實施例中，共刺激信號傳導序列包含CD28胞內信號傳導序列。在一些實施例中，胞內域包含CD3 ζ 胞內信號傳導序列及CD28

胞內信號傳導序列。

在一些實施例中，提供包含以下之抗EMC CAR：a)細胞外域本器包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗EMC抗體部分，該抗體部分包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 16-34中的任一者之胺基酸序列，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 36-50中的任一者之胺基酸序列；b)跨膜域，及c)胞內信號傳導域。在一些實施例中，胞內信號傳導域能夠活化免疫細胞。在一些實施例中，胞內信號傳導域包含一級信號傳導序列及共刺激信號傳導序列。在一些實施例中，一級信號傳導序列包含CD3ζ胞內信號傳導序列。在一些實施例中，共刺激信號傳導序列包含CD28胞內信號傳導序列。在一些實施例中，胞內域包含CD3ζ胞內信號傳導序列及CD28胞內信號傳導序列。

在一些實施例中，提供包含以下之抗EMC CAR：a)細胞外域，其包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之抗EMC抗體部分，b)跨膜域，及c)包含CD3ζ胞內信號傳導序列及CD28胞內信號傳導序列之胞內信號傳導域。在一些實施例中，NY-ESO-1肽為NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A02。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A*02:01。

在一些實施例中，提供包含以下之抗EMC CAR：a)細胞外域，其包含特異性結合於包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之複合體之抗EMC抗體部分，b)跨膜域，及c)包含CD3ζ胞內信號傳導序列及CD28胞內信號傳導序列之胞內信號傳導域。

在一些實施例中，提供包含以下之抗EMC CAR：a)細胞外域，其包含特異性結合於包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之複合體的抗EMC抗體部分，其中抗EMC抗體部分與以下者

交叉反應：i)包含具有SEQ ID NO: 7或9之胺基酸序列的NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；ii)包含具有SEQ ID NO: 7、10及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；iii)包含具有SEQ ID NO: 7、9、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；iv)包含具有SEQ ID NO: 7、9、10、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；v)包含具有SEQ ID NO: 7、9、10、12、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；或vi)包含具有SEQ ID NO: 7、9、11、12、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；b)跨膜域，及c)包含CD3ζ胞內信號傳導序列及CD28胞內信號傳導序列之胞內信號傳導域。

在一些實施例中，提供包含以下之抗EMC CAR：a)細胞外域，其包含特異性結合於包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之複合體的抗體部分，其中抗EMC抗體部分與以下者交叉反應：i)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02及HLA-A*02:06中的任一者之複合體中之每一者；ii)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02、HLA-A*02:03及HLA-A*02:06中的任一者之複合體中之每一者；iii)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:05及HLA-A*02:06中的任一者之複合體中之每一者；或iv)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:05、HLA-A*02:06及HLA-A*02:11中的任一者之複合體中之每一者；b)跨膜域；及c)包含CD3ζ胞內信號傳導序列及CD28胞內信號傳導序列之胞內信號傳導域。在一些實施例中，抗EMC抗體部分不結

合至包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:07之複合體。

在一些實施例中，提供包含以下之抗EMC CAR：a)細胞外域，其包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之抗EMC抗體部分，該抗體部分包含i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 95之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 96或97之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 98之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 99之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 100之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，b)跨膜域，及c)包含CD3 ζ 胞內信號傳導序列及CD28胞內信號傳導序列之胞內信號傳導域。

在一些實施例中，提供包含以下之抗EMC CAR：a)細胞外域，其包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗EMC抗體部分，該抗體部分包含i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 95之胺基酸序列，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 96或97之胺基酸序列，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 98之胺基酸序列；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 99之胺基酸序列，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 100之胺基酸序列，b)跨膜域，及c)包含CD3 ζ 胞內信號傳導序列及CD28胞內信號傳導序列之胞內信

號傳導域。

在一些實施例中，提供包含以下之抗EMC CAR：a)細胞外域，其包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之抗EMC抗體部分，該抗體部分包含i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域序列，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約3(如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；b)跨膜域，及c)包含CD3ζ胞內信號傳導序列及CD28胞內信號傳導序列之胞內信號傳導域。

在一些實施例中，提供包含以下之抗EMC CAR：a)細胞外域，其包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之抗EMC抗體部分，該抗體部分包含i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列；或包含至多約5個HC-CDR序列中之胺基酸取代

之其變異體；及ii)輕鏈可變域序列，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列；或包含至多約5個LC-CDR序列中之胺基酸取代之其變異體，b)跨膜域，及c)包含CD3 ζ 胞內信號傳導序列及CD28胞內信號傳導序列之胞內信號傳導域。

在一些實施例中，提供包含以下之抗EMC CAR：a)細胞外域，其包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗EMC抗體部分，該抗體部分包含：i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列；及ii)輕鏈可變域序列，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列；b)跨膜域，及c)包含CD3 ζ 胞內信號傳導序列及CD28胞內信號傳導序列之胞內信號傳導域。

在一些實施例中，提供包含以下之抗EMC CAR：a)細胞外域，其包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之抗EMC抗體部分，包含i)重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 16-34中的任一者之胺基酸序列，或具有至少約95%(例如至少約96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 36-50中的任一者之胺基酸序列，或具有至少約95%序列一致性之其變異體；b)跨膜域，及c)包含CD3 ζ 胞內信號傳導序列及

CD28胞內信號傳導序列之胞內信號傳導域。

在一些實施例中，提供包含以下之抗EMC CAR：a)細胞外域，其包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之抗EMC抗體部分，包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 16-34中的任一者之胺基酸序列，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 36-50中的任一者之胺基酸序列；b)跨膜域，及c)包含CD3 ζ 胞內信號傳導序列及CD28胞內信號傳導序列之胞內信號傳導域。

本文亦提供表現抗EMC CAR之效應細胞(如淋巴細胞，例如T細胞)。

亦提供產生表現抗EMC CAR之效應細胞之方法，該方法包含將包含編碼抗EMC CAR之核酸之載體引入至效應細胞中。在一些實施例中，將載體引入至效應細胞中包含藉由載體轉導效應細胞。在一些實施例中，將載體引入至效應細胞中包含藉由載體轉染效應細胞。載體轉導或轉染至效應細胞中可使用此項技術中已知之任何方法進行。

免疫結合物

在一些實施例中，抗EMC構築體包含含附接至效應分子之抗EMC抗體部分的免疫結合物(在本文中亦稱為「抗EMC免疫結合物」)。在一些實施例中，效應分子為治療劑，如癌症治療劑，其為細胞毒性的、細胞生長抑制的或以其他方式提供一些治療效益。在一些實施例中，效應分子為標記，其可直接或間接產生可偵測信號。

在一些實施例中，提供包含抗EMC抗體部分及治療劑之抗EMC免疫結合物(在本文中亦稱為「抗體-藥物結合物」或「ADC」)。在一些實施例中，治療劑為毒素，其為細胞毒性的、細胞生長抑制的或以其他方式阻止或降低靶細胞分裂之能力。使用ADC局部傳遞細胞毒性劑或細胞生長抑制劑，即在癌症治療中殺死或抑制腫瘤細胞之藥物(Syngis 及 Epenetos, *Anticancer Research* 19:605-614 (1999)；

Niculescu-Duvaz及Springer, *Adv. Drg. Del. Rev.* 26:151-172 (1997)；美國專利第4,975,278號)允許藥物部分靶向傳遞至靶細胞，及在其中的胞內積聚，其中全身性投與此等非結合治療劑可對於正常細胞以及設法消除之靶細胞產生不可接受的毒性含量(Baldwin等人, *Lancet* (1986年3月15日):603-605 (1986)；Thorpe, (1985) 「Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review」, *Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications*, A. Pinchera等人(編), 第475-506頁)。進而尋求具有最小毒性之最大功效。重要的是，由於大部分正常細胞不在其表面上呈現EMC，其無法結合抗EMC免疫結合物，且受保護免於毒素或其他治療劑之殺死效應。

用於抗EMC免疫結合物中之治療劑包括例如柔紅黴素、小紅莓、甲胺喋呤及長春地辛(Rowland等人, *Cancer Immunol. Immunother.* 21:183-187 (1986))。用於抗EMC免疫結合物中之毒素包括細菌毒素，如白喉毒素；植物毒素，如蓖麻毒素；小分子毒素，如格爾德黴素(Mandler等人, *J.Nat. Cancer Inst.* 92(19):1573-1581 (2000)；Mandler等人, *Bioorganic & Med. Chem. Letters* 10:1025-1028 (2000)；Mandler等人, *Bioconjugate Chem.* 13:786-791 (2002))、類美登素(EP 1391213；Liu等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:8618-8623 (1996))及卡奇黴素(Lode等人, *Cancer Res.* 58:2928 (1998)；Hinman等人, *Cancer Res.* 53:3336-3342 (1993))。毒素可藉由包括微管蛋白結合、DNA結合或拓撲異構酶抑制之機制發揮其細胞毒性及細胞生長抑制效應。一些細胞毒性藥物傾向於在結合至較大抗體或蛋白質受體配位體時為非活性的或弱活性的。

可使用之酶活性毒素及其片段包括例如白喉A鏈、白喉毒素之非結合活性片段、外毒素A鏈(來自綠膿假單胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*))、蓖麻毒素A鏈、相思子毒素A鏈、莫迪素A鏈、 α -帶麴菌

素(alpha-sarcin)、油桐(Aleurites fordii)蛋白、康乃馨蛋白、美洲商陸(Phytolaca americana)蛋白(PAPI、PAPII及PAP-S)、苦瓜(momordica charantia)抑制劑、麻瘋樹毒蛋白(curcin)、巴豆毒素(croton)、肥皂草(saponaire officinalis)抑制劑、白樹素(gelolin)、有絲分裂素(mitogellin)、侷限麴菌素(restrictocin)、酚黴素、伊諾黴素(enomycin)及黴菌毒素(tricothecene)。參見例如1993年10月28日公佈之WO 93/21232。

本文中亦涵蓋抗EMC抗體部分及一或多種小分子毒素，如卡奇黴素、類美登素、海兔毒素(dolastatin)、奧瑞他汀(aurostatin)、新月毒素及CC1065，及具有毒素活性之此等毒素之衍生物的抗EMC免疫結合物。

在一些實施例中，提供包含具有胞內活性之治療劑的抗EMC免疫結合物。在一些實施例中，抗EMC免疫結合物經內化且治療劑為阻斷細胞之蛋白質合成，在其中導致細胞死亡之細胞毒素。在一些實施例中，治療劑為包含具有核糖體不活化活性之多肽的細胞毒素，包括例如白樹素、波甘寧(bouganin)、沙泊寧(saporin)、蓖麻毒素、蓖麻毒素A鏈、欖香膠素、白喉毒素、侷限麴菌素、綠膿桿菌外毒素A及其變異體。在一些實施例中，當治療劑為包含具有核糖體不活化活性之多肽的細胞毒素時，抗EMC免疫結合物必須在結合至靶細胞時經內化以使蛋白質對於細胞為細胞毒性的。

在一些實施例中，提供包含其破壞DNA作用之治療劑的抗EMC免疫結合物。在一些實施例中，起破壞DNA作用之治療劑例如選自由以下組成之群：烯二炔(例如卡奇黴素及埃斯培拉黴素)及非烯二炔小分子劑(例如博萊黴素甲錠丙基-EDTA-Fe(II))。根據本申請案適用的其他癌症治療劑包括(但不限於)道諾黴素、小紅莓、偏端黴素A、順鉑、絲裂黴素C、海鞘素、倍癌黴素/CC-1065及博萊黴素/派萊黴素。

本發明另外涵蓋形成於抗EMC抗體部分與具有核分解活性之化合物(例如核糖核酸酶或DNA核酸內切酶。如去氧核糖核酸酶；DNA酶)之間的抗EMC免疫結合物。

在一些實施例中，抗EMC免疫結合物包含起破壞微管蛋白作用之藥劑。此類藥劑可包括例如根瘤菌素/美登素、太平洋紫杉醇、長春新鹼及長春鹼、秋水仙鹼、奧瑞他汀海兔毒素10 MMAE及peloruside A。

在一些實施例中，抗EMC免疫結合物包含烷基化劑，包括例如Asaley NSC 167780、AZQ NSC 182986、BCNU NSC 409962、白消安 NSC 750、羧基鄰苯二甲酸鉑NSC 271674、CBDCA NSC 241240、CCNU NSC 79037、CHIP NSC 256927、苯丁酸氮芥NSC 3088、氯脲菌素NSC 178248、順鉑NSC 119875、氯乙礬NSC 338947、氰基(N-嗎啉基)小紅莓NSC 357704、塞迪遜(cyclodisone)NSC 348948、衛康醇 NSC 132313、氟多潘NSC 73754、海普法姆(hepsulfam)NSC 329680、羥胺硫蒽酮NSC 142982、美法侖NSC 8806、甲基CCNU NSC 95441、絲裂黴素C NSC 26980、米托唑醯胺NSC 353451、氮芥NSC 762、PCNU NSC 95466、哌嗪NSC 344007、哌嗪二酮NSC 135758、哌泊溴烷NSC 25154、泊非羅黴素NSC 56410、螺乙內醯脲芥NSC 172112、替羅昔隆(teroxirone)NSC 296934、四鉑NSC 363812、噻替派NSC 6396、三伸乙基三聚氰胺NSC 9706、尿嘧啶氮芥NSC 34462及Yoshi-864 NSC 102627。

在一些實施例中，本申請案之抗EMC免疫結合物之癌症治療劑部分可包含抗有絲分裂劑，包括(但不限於)別秋水仙鹼NSC 406042、軟海綿素B NSC 609395、秋水仙鹼NSC 757、秋水仙鹼衍生物NSC 33410、海兔毒素10 NSC 376128(NG-奧瑞他汀衍生物)、美登素NSC 153858、根瘤菌素NSC 332598、紫杉醇NSC 125973、紫杉醇衍生物

NSC 608832、硫代秋水仙鹼NSC 361792、三苯甲基半胱胺酸NSC 83265、硫酸長春鹼NSC 49842及硫酸長春新鹼NSC 67574。

在一些實施例中，抗EMC免疫結合物包含拓撲異構酶I抑制劑，包括(但不限於)喜樹鹼NSC 94600、喜樹鹼、Na鹽NSC 100880、胺基喜樹鹼NSC 603071、喜樹鹼衍生物NSC 95382、喜樹鹼衍生物NSC 107124、喜樹鹼衍生物NSC 643833、喜樹鹼衍生物NSC 629971、喜樹鹼衍生物NSC 295500、喜樹鹼衍生物NSC 249910、喜樹鹼衍生物NSC 606985、喜樹鹼衍生物NSC 374028、喜樹鹼衍生物NSC 176323、喜樹鹼衍生物NSC 295501、喜樹鹼衍生物NSC 606172、喜樹鹼衍生物NSC 606173、喜樹鹼衍生物NSC 610458、喜樹鹼衍生物NSC 618939、喜樹鹼衍生物NSC 610457、喜樹鹼衍生物NSC 610459、喜樹鹼衍生物NSC 606499、喜樹鹼衍生物NSC 610456、喜樹鹼衍生物NSC 364830、喜樹鹼衍生物NSC 606497及嗎啉基阿黴素NSC 354646。

在一些實施例中，抗EMC免疫結合物包含拓撲異構酶II抑制劑，包括(但不限於)小紅莓NSC 123127、胺萘非特(amonafide)NSC 308847、m-AMSA NSC 249992、蔥吡啶衍生物NSC 355644、派拉瑞丁(pyrazoloacridine)NSC 366140、比山群(bisantrene)HCL NSC 337766、道諾黴素NSC 82151、脫氧小紅莓NSC 267469、米托蒽醌NSC 301739、美諾立爾(menogaril)NSC 269148、N,N-二苯甲基柔紅黴素NSC 268242、oxanthrazole NSC 349174、柔紅黴素苯胺NSC 164011、VM-26 NSC 122819及VP-16 NSC 141540。

在一些實施例中，抗EMC免疫結合物包含RNA或DNA抗代謝物，包括(但不限於)L-丙氨酸NSC 153353、5-氦胞苷NSC 102816、5-氟尿嘧啶NSC 19893、阿西維辛(acivicin)NSC 163501、胺基喋呤衍生物NSC 132483、胺基喋呤衍生物NSC 184692、胺基喋呤衍生物

NSC 134033、抗葉酸劑NSC 633713、抗葉酸劑NSC 623017、貝氏(Baker's)可溶抗葉酸劑NSC 139105、二氯烯丙基指甲花醌NSC 126771、布喹那(brequinar)NSC 368390、替加氟(前藥)NSC 148958、5,6-二氫-5-氮胞苷NSC 264880、甲胺喋呤NSC 740、甲胺喋呤衍生物NSC 174121、N-(膦醯乙醯基)-L-天冬胺酸(PALA)NSC 224131、吡唑呋喃菌素NSC 143095、曲美沙特(trimetrexate)NSC 352122、3-HP NSC 95678、2'-去氧-5-氟尿苷NSC 27640、5-HP NSC 107392、 α -TGDR NSC 71851、甘胺酸阿非迪黴素NSC 303812、阿糖胞苷NSC 63878、5-氮雜-2'-脫氧胞苷NSC 127716、 β -TGDR NSC 71261、環胞苷NSC 145668、胍唑NSC 1895、羥基脲NSC 32065、肌苷乙醇醛NSC 118994、麥克菌素II NSC 330500、吡唑并咪唑NSC 51143、硫鳥嘌呤NSC 752及硫代嘌呤NSC 755。

在一些實施例中，抗EMC免疫結合物包含高度放射性原子。多種放射性同位素可用於產生放射性結合之抗體。實例包括 ^{211}At 、 ^{131}I 、 ^{125}I 、 ^{90}Y 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{153}Sm 、 ^{212}Bi 、 ^{32}P 、 ^{212}Pb 及Lu之放射性同位素。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分可結合至「受體」(諸如抗生蛋白鏈菌素)，以用於腫瘤預先靶向中，其中向患者投與抗體-受體結合物，隨後使用清除劑將未結合之結合物自循環中移除，且隨後投與結合至細胞毒性劑(例如放射性核苷酸)之「配位體」(例如抗生素蛋白)。

在一些實施例中，抗EMC免疫結合物可包含結合至前藥活化酶之抗EMC抗體部分。在一些此類實施例中，前藥活化酶將前藥(例如肽基化學治療劑，參見WO 81/01145)轉化為活性藥物，諸如抗癌藥物。在一些實施例中，此類抗EMC免疫結合物適用於抗體依賴性酶介導之前藥療法(「ADEPT」)。可結合至抗體之酶包括(但不限於)鹼性

磷酸酶，其適用於將含磷酸酯基之前藥轉變成游離藥物；芳基硫酸酯酶，其適用於將含硫酸酯基之前藥轉變成游離藥物；胞嘧啶脫胺酶，其適用於將無毒5-氟胞嘧啶轉變成抗癌藥物5-氟尿嘧啶；蛋白酶，諸如沙雷菌屬蛋白酶、嗜熱菌蛋白酶、枯草桿菌蛋白酶、羧基肽酶及組織蛋白酶(諸如組織蛋白酶B及L)，其適用於將含肽前藥轉變成游離藥物；D-丙胺醯基羧基肽酶，其適用於轉變含有D-胺基酸取代基之前藥；碳水化合物裂解酶，諸如 β -半乳糖及神經胺酸苷酶，其適用於將糖基化前藥轉變成游離藥物； β -內醯胺酶，其適用於將經 β -內醯胺衍生之藥物轉變成游離藥物；以及青黴素醯胺酶，諸如青黴素V醯胺酶及青黴素G醯胺酶，其適用於將分別在胺氮經苯氧基乙醯基或苯乙基衍生之藥物轉變成游離藥物。在一些實施例中，酶可藉由此項技術中熟知之重組DNA技術共價結合於抗體部分。參見例如Neuberger等人，*Nature* 312:604-608 (1984)。

在一些實施例中，抗EMC免疫結合物之治療部分可為核酸。可使用之核酸包括(但不限於)反義RNA、基因或其他聚核苷酸，包括核酸類似物，如硫鳥嘌呤及硫代嘌呤。

本申請案另外提供包含附接至效應分子之抗EMC抗體部分之抗EMC免疫結合物，其中效應分子為標記，其可間接或直接產生可偵測信號。此等抗EMC免疫結合物可用於研究或診斷應用，如用於癌症之活體內偵測。標記較佳能夠直接或間接產生可偵測信號。舉例而言，標記可為射線不透的或放射性同位素，如 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{123}I 、 ^{125}I 、 ^{131}I ；螢光(螢光團)或化學發光(發色團)化合物，如螢光異硫氰酸鹽、若丹明或螢光素；酶，如鹼性磷酸酶、 β -半乳糖或辣根過氧化酶；顯影劑；或金屬離子。在一些實施例中，標記為用於閃爍攝影研究之放射性原子，例如 ^{99}Tc 或 ^{123}I ，或用於核磁共振(NMR)成像(亦稱為磁共振成像，MRI)之自旋標記，如鎳-89、碘-123、碘-131、銥-

111、氟-19、碳-13、氮-15、氧-17、鈮、錳或鐵。鋅-89可與各種金屬螯合劑錯合且結合至抗體，例如用於PET成像(WO 2011/056983)。

在一些實施例中，可間接偵測抗EMC免疫結合物。舉例而言，對抗EMC免疫結合物具有特異性且含有可偵測標記之二級抗體可用於偵測抗EMC免疫結合物。

因此，舉例而言，在一些實施例中，提供包含以下之抗EMC免疫結合物：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之抗EMC抗體部分，及b)效應分子。在一些實施例中，NY-ESO-1肽為NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A02。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A*02:01。在一些實施例中，效應分子共價連接於抗EMC抗體部分。在一些實施例中，效應分子為選自例如由以下組成之群的治療劑：藥物、毒素、放射性同位素、蛋白質、肽及核酸。在一些實施例中，效應分子為癌症治療劑。在一些實施例中，癌症治療劑為化學治療劑。在一些實施例中，癌症治療劑為選自例如由以下組成之群的高度放射性原子： ^{211}At 、 ^{131}I 、 ^{125}I 、 ^{90}Y 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{153}Sm 、 ^{212}Bi 、 ^{32}P 及 ^{212}Pb 。在一些實施例中，效應分子為標記，其可直接或間接產生可偵測信號。在一些實施例中，標記為選自例如由以下組成之群的放射性同位素： ^3H 、 ^{14}C 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{123}I 、 ^{125}I 及 ^{131}I 。在一些實施例中，抗EMC抗體部分為scFv。在一些實施例中，抗EMC抗體部分為人類、人類化或半合成的。

在一些實施例中，提供包含以下之抗EMC免疫結合物：a)特異性結合於包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之複合體之抗EMC抗體部分，及b)效應分子。在一些實施例中，效應分子共價連接於抗EMC抗體部分。在一些實施例中，效應分子為選自例如由以下組成之群的治療劑：藥物、毒素、放射性同位素、蛋白質、肽

及核酸。在一些實施例中，效應分子為癌症治療劑。在一些實施例中，癌症治療劑為化學治療劑。在一些實施例中，癌症治療劑為選自例如由以下組成之群的高度放射性原子： ^{211}At 、 ^{131}I 、 ^{125}I 、 ^{90}Y 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{153}Sm 、 ^{212}Bi 、 ^{32}P 及 ^{212}Pb 。在一些實施例中，效應分子為標記，其可直接或間接產生可偵測信號。在一些實施例中，標記為選自例如由以下組成之群的放射性同位素： ^3H 、 ^{14}C 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{123}I 、 ^{125}I 及 ^{131}I 。在一些實施例中，抗EMC抗體部分為scFv。在一些實施例中，抗EMC抗體部分為人類、人類化或半合成的。

在一些實施例中，提供包含以下之抗EMC免疫結合物：a)特異性結合於包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之複合體之抗EMC抗體部分，及b)效應分子。在一些實施例中，效應分子共價連接於抗EMC抗體部分。在一些實施例中，效應分子為選自例如由以下組成之群的治療劑：藥物、毒素、放射性同位素、蛋白質、肽及核酸。在一些實施例中，效應分子為癌症治療劑。在一些實施例中，癌症治療劑為化學治療劑。在一些實施例中，癌症治療劑為選自例如由以下組成之群的高度放射性原子： ^{211}At 、 ^{131}I 、 ^{125}I 、 ^{90}Y 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{153}Sm 、 ^{212}Bi 、 ^{32}P 及 ^{212}Pb 。在一些實施例中，效應分子為標記，其可直接或間接產生可偵測信號。在一些實施例中，標記為選自例如由以下組成之群的放射性同位素： ^3H 、 ^{14}C 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{123}I 、 ^{125}I 及 ^{131}I 。在一些實施例中，抗EMC抗體部分為scFv。在一些實施例中，抗EMC抗體部分為人類、人類化或半合成的。在一些實施例中，抗EMC抗體部分與至少一個(如至少2、3、4、5或6個中的任一者)包含MHC I類蛋白質及具有一個胺基酸取代(如保守胺基酸取代)之NY-ESO-1肽之變異體之複合體交叉反應。在一些實施例中，抗EMC抗體部分與至少一個(如至少2、3、4或5個中的任一者)包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之不同亞型之複合體交叉反應。

舉例而言，在一些實施例中，提供包含以下之抗EMC免疫結合物：a)特異性結合於包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之複合體的抗EMC抗體部分，其中抗EMC抗體部分與以下者交叉反應：i)包含具有SEQ ID NO: 7或9之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；ii)包含具有SEQ ID NO: 7、10及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；iii)包含具有SEQ ID NO: 7、9、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；iv)包含具有SEQ ID NO: 7、9、10、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；v)包含具有SEQ ID NO: 7、9、10、12、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；或vi)包含具有SEQ ID NO: 7、9、11、12、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；及b)效應分子。

在一些實施例中，提供包含以下之抗EMC免疫結合物：a)特異性結合於包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之複合體的抗EMC抗體部分，其中抗EMC抗體部分與以下者交叉反應：i)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02及HLA-A*02:06中的任一者之複合體中之每一者；ii)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02、HLA-A*02:03及HLA-A*02:06中的任一者之複合體中之每一者；iii)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:05及HLA-A*02:06中的任一者之複合體中之每一者；或iv)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:05、HLA-A*02:06及HLA-A*02:11中的任一者之複合體中之每

一者；及b)效應分子。在一些實施例中，抗EMC抗體部分不結合至包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:07之複合體。

在一些實施例中，提供包含以下之抗EMC免疫結合物：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗EMC抗體部分，該抗體部分包含：i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 95之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 96或97之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 98之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 99之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 100之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及b)效應分子。

在一些實施例中，提供包含以下之抗EMC免疫結合物：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗EMC抗體部分，該抗體部分包含i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 95之胺基酸序列，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 96或97之胺基酸序列，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 98之胺基酸序列；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 99之胺基酸序列，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 100之胺基酸序列，及b)效應分子。

在一些實施例中，提供包含以下之抗EMC免疫結合物：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗EMC抗體部

分，該抗體部分包含：i)重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約3(如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及b)效應分子。

在一些實施例中，提供包含以下之抗EMC免疫結合物：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗EMC抗體部分，該抗體部分包含：i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列；或包含HC-CDR序列中之至多約5個胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域序列，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列；或包含LC-CDR序列中

之至多約5個胺基酸取代之其變異體；及b)效應分子。

在一些實施例中，提供包含以下之抗EMC免疫結合物：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之抗EMC抗體部分，該抗體部分包含i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列；及ii)輕鏈可變域序列，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列；及b)效應分子。

在一些實施例中，提供包含以下之抗EMC免疫結合物：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之抗EMC抗體部分，該抗體部分包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 16-34中的任一者之胺基酸序列，或具有至少約95%(例如至少約96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 36-50中的任一者之胺基酸序列，或具有至少約95%(例如至少約96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體，及b)效應分子。

在一些實施例中，提供包含以下之抗EMC免疫結合物：a)特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之抗EMC抗體部分，該抗體部分包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 16-34中的任一者之胺基酸序列，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 36-50中的任一者之胺基酸序列；及b)效應分子。

核酸

亦涵蓋編碼抗EMC構築體或抗EMC抗體部分之核酸分子。在一些實施例中，提供編碼全長抗EMC抗體之核酸(或核酸集合)。在一些實施例中，提供編碼多特異性抗EMC分子(例如多特異性抗EMC抗體、雙特異性抗EMC抗體或雙特異性T細胞接合分子抗EMC抗體)或其多肽部分之核酸(或核酸集合)。在一些實施例中，提供編碼抗EMC CAR之核酸(或核酸集合)。在一些實施例中，提供編碼抗EMC免疫結合物，或其多肽部分之核酸(或核酸集合)。

舉例而言，在一些實施例中，提供包含SEQ ID NO: 15之序列及SEQ ID NO: 35之序列的核酸。

本申請案亦包括此等核酸序列之變異體。舉例而言，變異體包括在適度嚴格雜交條件下雜交至編碼本申請案之抗EMC構築體或抗EMC抗體部分之核酸序列的核苷酸序列。

本發明亦提供插入有本發明之核酸的載體。

簡單概括而言，藉由編碼抗EMC構築體或其多肽部分之天然或合成核酸表現抗EMC構築體(例如抗EMC CAR)或其多肽部分可藉由將核酸插入至適當表現載體中，使得核酸可操作地連接於5'及3'調節元件，包括例如啟動子(例如淋巴細胞特異性啟動子)及3'非轉譯區(UTR)而實現。載體可適合於真核宿主細胞中之複製及整合。典型選殖及表現載體含有轉錄及轉譯終止子、起始序列及適用於調節所要核酸序列表現之啟動子。

本發明之核酸亦可用於使用標準基因傳遞方案的核酸免疫接種及基因療法。基因傳遞方法為此項技術中已知。參見例如美國專利第5,399,346號、第5,580,859號、第5,589,466號，其以全文引用的方式併入本文中。在一些實施例中，本發明提供基因療法載體。

核酸可選殖至多種類型之載體中。舉例而言，核酸可選殖至載體中，包括(但不限於)質體、噬菌粒、噬菌體衍生物、動物病毒及黏

質體。尤其受關注之載體包括表現載體、複製載體、探針產生載體及定序載體。

此外，表現載體可以病毒載體形式提供給細胞。病毒載體技術為此項技術中熟知的且描述於例如 Sambrook 等人 (2001, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, New York) 及其他病毒學及分子生物學手冊中。適用作載體之病毒包括(但不限於)反轉錄病毒、腺病毒、腺相關病毒、疱疹病毒及慢病毒。一般而言，適合載體含有在至少一種有機體、啟動子序列、方便的限制核酸內切酶位點及一或多種可選標記物中有作用的複製起點(參見例如 WO 01/96584；WO 01/29058；及美國專利第6,326,193號)。

已針對基因轉移至哺乳動物細胞中開發出多個基於病毒之系統。舉例而言，反轉錄病毒提供基因傳遞系統之適宜平台。所選基因可插入至中載體中且使用此項技術中已知之技術封裝於反轉錄病毒粒子中。重組病毒可隨後經分離且活體內或離體傳遞至個體之細胞中。多個反轉錄病毒系統為此項技術中已知。在一些實施例中，使用腺病毒載體。多個腺病毒載體為此項技術中已知。在一些實施例中，使用慢病毒載體。來源於反轉錄病毒(諸如慢病毒)之載體為實現長期基因轉移之適合工具，因為其允許長期穩定整合轉殖基因及其在子細胞中之傳播。慢病毒載體具有優於來源於 onco-反轉錄病毒(諸如鼠類白血病病毒)之載體的額外優勢，因為其可轉導非增殖性細胞，諸如肝細胞。其亦具有低免疫原性之額外優勢。

額外啟動子要素(例如，強化子)調節轉錄起始頻率。通常，此等要素定位於起始位點上游30-110 bp區中，儘管多個啟動子最近已展示含有亦在起始位點下游之功能性要素。啟動子要素之間的間距通常為靈活的，使得當要素倒置或相對於彼此移動時時保留啟動子功能。在胸苷激酶(tk)啟動子中，啟動子要素之間的間距在活性開始減退之前

可增加至相隔50 bp。

適合啟動子之一個實例為即刻早期巨細胞病毒(CMV)啟動子序列。此啟動子序列為能夠驅使高程度表現任何可操作地連接至其上之聚核苷酸序列的強構成啟動子序列。適合啟動子之另一實例為延伸生長因子-1 α (EF-1 α)。然而，亦可使用其他構成性啟動子序列，包括(但不限於)猴病毒40 (SV40)早期啟動子、小鼠乳房腫瘤病毒(MMTV)、人類免疫缺乏病毒(HIV)長末端重複序列(LTR)啟動子、MoMuLV啟動子、禽類白血病毒啟動子、埃-巴二氏病毒即刻早期啟動子、勞斯肉瘤病毒啟動子(Rous sarcoma virus promoter)，以及人類基因啟動子，諸如(但不限於)肌動蛋白啟動子、肌球蛋白啟動子、血紅蛋白啟動子及肌酸激酶啟動子。此外，本發明應不限於組成性啟動子之使用。亦涵蓋誘導型啟動子作為本發明之部分。誘導型啟動子之使用提供分子開關，該分子開關能夠在需要此類表現時打開其可操作地連接之聚核苷酸序列表現或在不需要表現時關閉表現。誘導型啟動子之實例包括(但不限於)金屬硫蛋白啟動子、糖皮質激素啟動子、孕酮啟動子及四環素啟動子。

為了評估多肽或其部分之表現，待引入細胞中之表現載體亦可含有可選標記基因或報導基因或兩者以促進自設法經病毒載體轉染或感染之細胞群體鑑別及選擇表現細胞。在其他態樣中，可選標記物可攜載於獨立DNA段上且用於共轉染程序。可選標記物及報導體基因皆可側接適當調節序列以使能夠在宿主細胞中表現。適用可選標記物包括例如耐抗生素基因，諸如neo及其類似物。

報導基因用於鑑別潛在經轉染細胞及評估調節序列功能。一般而言，報導基因為接受生物體或組織中不存在或表現且編碼表現藉由一些容易偵測之特性(例如酶促活性)顯現之多肽的基因。在DNA已引入受體細胞中之後的適合時間分析報導基因之表現。適合報告基因可

包括編碼螢光素酶、 β -半乳糖、氯黴素乙醯基轉移酶、分泌鹼性磷酸酶或綠色螢光蛋白基因之基因(例如 Ui-Tel 等人, 2000 *FEBS Letters* 479: 79-82)。適合表現系統為熟知的且可使用已知技術製備或商業購買。一般而言, 具有展示報導基因最高表現量之最小 5'側接區的構築體鑑別為啟動子。此類啟動子區域可連接至報導基因且用於評估調節啟動子驅動之轉錄能力的試劑。

向細胞中引入及表現基因之方法為此項技術中已知。在表現載體之情況下, 載體可易於藉由此項技術中之任何方法引入宿主細胞(例如, 哺乳動物、細菌、酵母或昆蟲細胞)中。舉例而言, 表現載體可藉由物理、化學或生物方式轉移至宿主細胞中。

用於將聚核苷酸引入至宿主細胞中之物理方法包括磷酸鈣沈澱、脂質體轉染、粒子轟擊、顯微注射、電穿孔及其類似方法。用於製造包含載體及/或外源性核酸之細胞的方法為此項技術中熟知的。參見例如 Sambrook 等人 (2001, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, New York)。在一些實施例中, 藉由磷酸鈣轉染進行將聚核苷酸引入至宿主細胞中。

將所關注的聚核苷酸引入宿主細胞中之生物方法包括使用 DNA 及 RNA 載體。病毒載體及尤其反轉錄病毒載體已成為將基因插入哺乳動物(例如, 人類)細胞中之最常用方法。其他病毒載體可來源於慢病毒、痘病毒、1 型單純疱疹病毒、腺病毒及腺相關病毒及其類似病毒。參見例如美國專利第 5,350,674 號及第 5,585,362 號。

用於將聚核苷酸引入至宿主細胞中之化學方式包括膠態分散系統, 諸如大分子複合體、奈米囊劑、微球、珠粒及基於脂質之系統, 包括水包油乳液、微胞、混合微胞及脂質體。用作活體外及活體內傳送媒劑之例示性膠態系統為脂質體(例如人工膜泡)。

在利用非病毒傳遞系統的情況下, 例示性傳遞媒劑為脂質體。

預期使用脂質調配物將核酸引入至宿主細胞(活體外、離體或活體內)。在另一態樣中，核酸可與脂質有關。與脂質相關聯之核酸可囊封於脂質體之水性內部中，穿插於脂質體之脂質雙層內，經由與脂質體及寡核苷酸相關聯之連接分子附接至脂質體、包覆於脂質體中，與脂質體複合，分散於含有脂質之溶液中，與脂質混合，與脂質組合，以懸浮液形式含於脂質中，含有微胞或與微胞複合，或以其他方式與脂質相關聯。與組合物相關聯之脂質、脂質/DNA或脂質/表現載體不限於溶液中之任何特定結構。舉例而言，其可存在於雙層結構中，呈微胞形式或具有「塌陷」結構。其亦可簡單地穿插於溶液中，可能形成大小或形狀不均勻的聚集物。脂質為可為天然存在脂質或合成脂質的脂肪物質。舉例而言，脂質包括細胞質中天然存在之脂肪滴以及含有長鏈脂族烴及其衍生物之化合物類別(諸如脂肪酸、醇、胺、胺基醇及醛)。

不管用於將外源性核酸引入宿主細胞或以其他方式使細胞暴露於本發明之抑制劑的方法，為了確認宿主細胞中重組DNA序列之存在，可進行多種分析。此類分析法包括例如熟習此項技術者熟知的「分子生物」分析法，諸如南方及北方墨點法、RT-PCR及PCR；「生物化學」分析法，諸如偵測特定肽之存在或不存在，例如藉由免疫方式(ELISA及西方墨點法)或藉由本文所述之分析法鑑別在本發明之範疇內的試劑。

MHC I類蛋白質

MHC I類蛋白質為兩種主要類別之主要組織相容性複合體(MHC)分子中的一者(另一者為MHC II類)且發現於身體之幾乎每一成核細胞上。其功能為顯示細胞內至T細胞之蛋白質片段；將忽略健康細胞，而含有外來蛋白質之細胞將被免疫系統攻擊。由於MHC I類蛋白質呈遞衍生自胞溶質蛋白質之肽，MHC I類呈遞路徑通常稱作胞溶質或內

源性路徑。I類MHC分子結合主要產生自胞溶質蛋白質之降解(藉由蛋白酶體)之肽。MHC I:肽複合體接著插入至細胞之質膜中。肽結合至I類MHC分子之細胞外部分。因此，I類MHC之功能為將胞內蛋白質呈現至細胞毒性T細胞(CTL)。然而，I類MHC也可在稱為交叉呈遞之方法中呈遞產生自外源蛋白質之肽。

MHC I類蛋白質由兩個多肽鏈， α 及 β 2-微球蛋白(β 2M)組成。兩個鏈經由b2m及 α 3域之相互作用非共價連接。僅 α 鏈為多晶型且由HLA基因編碼，而b2m次單元並非多晶型且由 β -2微球蛋白基因編碼。 α 3域跨越質膜且與T細胞之CD8共受體相互作用。 α 3-CD8相互作用將MHC I分子保持在適當的位置，而細胞毒性T細胞表面上之T細胞受體(TCR)結合其 α 1- α 2異質二聚體配位體，且檢查偶合肽之抗原性。 α 1及 α 2域摺疊而構成凹槽，用於肽結合。MHC I類蛋白質結合長度為8-10個胺基酸之肽。

人類白血球抗原(HLA)基因為MHC基因之人類型式。人體中之三種主要MHC I類蛋白質為HLA-A、HLA-B及HLA-C，而3種次要MHC I類蛋白質為HLA-E、HLA-F及HLA-G。HLA-A位列人體中具有最快演進編碼序列之基因中。截至2013年12月，存在2432種編碼1740種活性蛋白質及117種剔除式蛋白質之已知HLA-A對偶基因。HLA-A基因位於染色體6之短臂上且編碼HLA-A之較大 α 鏈成分。HLA-A α -鏈之變化對於HLA功能至關重要。此變化促進群體中之基因多樣性。由於各HLA對於某些結構之肽具有不同親和力，較多種HLA意謂較多種抗原『呈遞』於細胞表面上，增加群體子組將對任何給定外來侵入物具抗性之可能性。此減小單一病原體具有消滅整個人類群體之能力的可能性。各個體可表現至多兩種類型之HLA-A，一種來自其親本中之每一者。一些個體將自兩個親本繼承相同HLA-A，減少其個體HLA多樣性；然而，大多數個體將接收HLA-A之兩種不同複本。所有HLA組遵

循此相同模式。換言之，個體可僅表現2432種已知HLA-A對偶基因中之一者或兩者。

所有對偶基因接受至少四個數字分類，例如HLA-A*02:12。A表示對偶基因所屬於的HLA基因。存在許多HLA-A對偶基因，使得藉由血清型之分類使分類簡化。下一對數字指示此分配。舉例而言，HLA-A*02:02、HLA-A*02:04及HLA-A*02:324全部為A2血清型之成員(藉由*02字首指示)。此組為造成HLA相容性之主要因子。此後的所有數字無法藉由血清分型測定且經由基因測序指示。第二組數字指示產生何種HLA蛋白質。此等以發現順序指定且截至2013年12月，存在456種不同的已知HLA-A02蛋白質(指定名稱HLA-A*02:01至HLA-A*02:456)。最短可能HLA名稱包括此等細節中之全部兩者。超出其的各擴展表示可或可不改變蛋白質之核苷酸變化。

在一些實施例中，抗EMC抗體部分特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體，其中MHC I類蛋白質為HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-E、HLA-F或HLA-G。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A、HLA-B或HLA-C。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-B。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-C。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A01、HLA-A02、HLA-A03、HLA-A09、HLA-A10、HLA-A11、HLA-A19、HLA-A23、HLA-A24、HLA-A25、HLA-A26、HLA-A28、HLA-A29、HLA-A30、HLA-A31、HLA-A32、HLA-A33、HLA-A34、HLA-A36、HLA-A43、HLA-A66、HLA-A68、HLA-A69、HLA-A74或HLA-A80。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A02。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A*02:01-555中的任一者，如HLA-A*02:01、HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:04、HLA-A*02:05、HLA-A*02:06、HLA-A*02:07、HLA-

A*02:08 、 HLA-A*02:09 、 HLA-A*02:10 、 HLA-A*02:11 、 HLA-A*02:12 、 HLA-A*02:13 、 HLA-A*02:14 、 HLA-A*02:15 、 HLA-A*02:16 、 HLA-A*02:17 、 HLA-A*02:18 、 HLA-A*02:19 、 HLA-A*02:20 、 HLA-A*02:21 、 HLA-A*02:22或HLA-A*02:24 。 在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A*02:01 。 HLA-A*02:01表現於39-46%之所有高加索人中，且因此表示用於本發明之MHC I類蛋白質之適合選擇。

適用於產生抗EMC抗體部分之NY-ESO-1 肽可例如基於使用熟習此項技術者已知之電腦預測模型之蛋白酶體及免疫蛋白酶體之HLA-A*02:01結合基元及裂解位點的存在而確定。對於預測MHC I類結合位點，此類模型包括(但不限於) IEDB (Vita等人, *The immune epitope database (IEDB) 3.0. Nucleic Acids Res.* 2014年10月9日. pii: gku938)、ProPred1 (更詳細地描述於Singh及Raghava, *ProPred: prediction of HLA-DR binding sites. BIOINFORMATICS* 17(12):1236-1237, 2001中)及SYFPEITHI (參見Schuler等人 *SYFPEITHI, Database for Searching and T-Cell Epitope Prediction. Immunoinformatics Methods in Molecular Biology*, 第409(1)卷: 75-93, 2007)。

一旦鑑別出適當肽，即可根據熟習此項技術者熟知之方案完成肽合成。本發明之肽由於其相對較小尺寸而可根據習知肽合成技術直接在溶液中或固體載體上合成。各種自動合成器為可商購的且可根據已知方案使用。在溶液相中合成肽已變為大規模生產合成肽之公認程序且因此為製備本發明之肽之適合替代方法(參見例如Solid Phase Peptide Synthesis, John Morrow Stewart及Martin等人 *Application of Almez-mediated Amidation Reactions to Solution Phase Peptide Synthesis*, Tetrahedron Letters 第39卷, 第1517-1520頁, 1998)。

候選NY-ESO-1 肽之結合活性可使用抗原處理缺陷T2細胞株測

試，該細胞株當藉由抗原呈遞凹槽中之肽穩定化時增加HLA-A表現。T2細胞經候選肽脈衝足以使細胞表面上之HLA-A表現穩定化之時間，其可使用此項技術中已知之任何方法量測，如藉由用對HLA-A具有特異性之螢光標記單株抗體(例如BB7.2)免疫染色，接著進行螢光活化細胞分選(FACS)分析。

製備抗EMC抗體及抗EMC抗體部分

在一些實施例中，抗EMC抗體或抗EMC抗體部分為單株抗體。單株抗體可例如使用融合瘤方法，如Kohler及Milstein, *Nature*, 256:495 (1975)及Sergeeva等人, *Blood*, 117(16):4262-4272描述之方法，使用本文及下文實例中所述之噬菌體呈現方法，或使用重組DNA方法(參見例如美國專利第4,816,567號)製備。

在融合瘤方法中，倉鼠、小鼠或其他適當宿主動物通常用免疫劑免疫以產生淋巴細胞，其產生或能夠產生將特異性結合於免疫劑之抗體。或者，淋巴細胞可在活體外免疫。免疫劑可包括所關注的蛋白質之多肽或融合蛋白，或包含至少兩個分子之複合體，如包含NY-ESO-1 肽及MHC I類蛋白質之複合體。通常，若需要人類來源之細胞，則使用末梢血液淋巴細胞(「PBL」)；或若需要非人類哺乳動物來源，則使用脾細胞或淋巴結細胞。淋巴細胞接著使用適合融合劑(如聚乙二醇)經永生化細胞株融合以形成融合瘤細胞。參見例如Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice* (New York: Academic Press, 1986), 第59-103頁。永生化細胞株通常為經轉化哺乳動物細胞，特定言之嚙齒動物、牛類及人類來源之骨髓瘤細胞。通常採用大鼠或小鼠骨髓瘤細胞株。融合瘤細胞可在較佳含有一或多種抑制未融合、永生化細胞之生長或存活之物質的適合培養基中培養。舉例而言，若親本細胞缺乏酶次黃嘌呤-鳥嘌呤磷酸核糖基轉移酶(HGPRT或HPRT)，則用於融合瘤之培養基通常將包括次黃嘌呤、胺

基蝶呤及胸苷(「HAT培養基」)，其阻止缺乏HGPRT之細胞生長。

在一些實施例中，永生化細胞株有效融合，藉由所選產抗體細胞支持抗體之穩定高含量表現且對於如HAT培養基之培養基敏感。在一些實施例中，永生化細胞株為鼠類骨髓瘤細胞株，其可例如獲自Salk Institute Cell Distribution Center, San Diego, California及American Type Culture Collection, Manassas, Virginia。已描述用於產生人類單株抗體之人類骨髓瘤及小鼠-人類雜骨髓瘤細胞株。Kozbor, *J. Immunol.*, 133:3001 (1984)；Brodeur等人 *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications* (Marcel Dekker, Inc.: New York, 1987) 第51-63頁。

接著可針對單株抗體之存在來分析其中培養融合瘤細胞之培養基，該等單株抗體係針對多肽。可藉由免疫沈澱或藉由活體外結合分析(諸如放射免疫分析(RIA)或酶聯免疫吸附分析(ELISA))測定由融合瘤細胞產生之單株抗體的結合特異性。該等技術及分析法為此項技術中已知。單株抗體之結合親和力可例如藉由Munson及Pollard, *Anal. Biochem.*, 107:220 (1980)之Scatchard分析測定。

在鑑別所需融合瘤細胞之後，純系可藉由限制稀釋程序次選殖且藉由標準方法生長。Goding, 前述。出於此目的之適合培養基包括例如杜爾貝科氏改良伊格爾培養基(Dulbecco's Modified Eagle's Medium)及RPMI-1640培養基。或者，融合瘤細胞可以腹水形式活體內生長於哺乳動物中。

次純系所分泌之單株抗體可藉由習知免疫球蛋白純化程序(諸如蛋白A-瓊脂糖、羧磷灰石層析、凝膠電泳、透析或親和層析)自培養基或腹水液分離或純化。

抗EMC抗體或抗體部分亦可藉由針對具有一或多種所需活性之抗體篩選組合文庫而鑑別。舉例而言，此項技術中已知多種方法用於

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

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

抗體或其抗原結合片段可使用噬菌體呈現製備以針對特異於包

含NY-ESO-1 肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗體篩選文庫。文庫可為具有至少 1×10^9 (如至少約 1×10^9 、 2.5×10^9 、 5×10^9 、 7.5×10^9 、 1×10^{10} 、 2.5×10^{10} 、 5×10^{10} 、 7.5×10^{10} 或 1×10^{11} 中的任一者) 個獨特人類抗體片段之多樣性之人類scFv噬菌體呈現文庫。在一些實施例中，文庫為構築自DNA之未處理人類文庫，該DNA從來自健康供體之人類PMBC及脾提取，包涵所有人類重鏈及輕鏈亞科。在一些實施例中，文庫為構築自DNA之未處理人類文庫，該DNA從患有各種疾病之患者，如患有自體免疫疾病之患者、癌症患者及患有感染性疾病之患者分離之PBMC提取。在一些實施例中，文庫為半成人類文庫，其中重鏈CDR3為完全隨機化的，所有胺基酸(除半胱胺酸之外)同等地可能存在於任何給定位置(參見例如Hoet, R.M. *et al.*, *Nat. Biotechnol.* 23(3):344-348, 2005)。在一些實施例中，半成人類文庫之重鏈CDR3之長度為約5至約24(如約5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23或24中的任一者)個胺基酸。在一些實施例中，文庫為非人類噬菌體呈現文庫。

以高親和力結合至EMC之噬菌體純系可如下選擇：藉由將噬菌體反覆結合至EMC，該EMC結合至固體載體(如用於溶液水平移動之珠粒或用於細胞水平移動之哺乳動物細胞)，接著移除非結合噬菌體及藉由特異性結合噬菌體之溶離。在溶液水平移動之實例中，EMC可經生物素標記以固定至固體載體。生物素標記之EMC與噬菌體文庫及固體載體，如抗生蛋白鏈菌素結合之戴諾珠粒M-280混合，且接著EMC-噬菌體-珠粒複合體經分離。結合噬菌體純系接著經溶離且用於感染適當宿主細胞，如大腸桿菌XL1-Blue，用於表現及純化。在細胞水平移動之實例中，負載有EMC之NY-ESO-1 肽之T2細胞(TAP缺陷、HLA-A*02:01⁺淋巴母細胞細胞株)與噬菌體文庫混合，其後收集細胞且結合純系經溶離且用於感染適當宿主細胞(用於表現及純化)。

水平移動可藉由溶液水平移動、細胞水平移動或兩者之組合進行多個(如約2、3、4、5、6或大於6中的任一者)回合以富集特異性結合至EMC之噬菌體純系。可藉由此項技術中已知之任何方法，包括例如ELISA及FACS測試富集之噬菌體純系與EMC之特異性結合。

單株抗體亦可藉由重組DNA方法，如美國專利第4,816,567號中所述之彼等製得。編碼本發明之單株抗體之DNA可使用習知程序(例如藉由使用能夠特異性結合至編碼鼠類抗體之重鏈及輕鏈之基因的寡核苷酸探針)容易地分離及測序。如上文所述之融合瘤細胞或本發明之EMC特異性噬菌體可充當此類DNA之來源。分離後，可將DNA置於表現載體中，接著轉染於宿主細胞(諸如猴COS細胞、中國倉鼠卵巢(CHO)細胞或骨髓瘤細胞)中(否則該等宿主細胞不會產生免疫球蛋白)，獲得重組宿主細胞中單株抗體之合成。DNA亦可例如藉由用人類重鏈及輕鏈恆定域及/或構架區之編碼序列取代同源非人類序列(美國專利第4,816,567號；莫里森等人，前述)或藉由將非免疫球蛋白多肽之全部或部分編碼序列共價接合至免疫球蛋白編碼序列而修飾。此類非免疫球蛋白多肽可取代本發明抗體之恆定域，或可取代本發明抗體之一個抗原組合位點的可變域以產生嵌合二價抗體。

抗體可為單價抗體。用於製備單價抗體之方法為此項技術中已知。舉例而言，一種方法涉及免疫球蛋白輕鏈及經修飾之重鏈的重組表現。通常在Fc區中之任一點截短重鏈以防止重鏈交聯。或者，相關半胱胺酸殘基經另一胺基酸殘基取代或經缺失以防止交聯。

活體外方法亦適合於製備單價抗體。可使用此項技術中已知之任何方法實現抗體之消化以產生其片段，特定言之Fab片段。

具有所需結合特異性之抗體可變域(抗體-抗原組合位點)可融合至免疫球蛋白恆定域序列。較佳與包含至少部分之鉸鏈、CH₂及CH₃區之免疫球蛋白重鏈恆定域進行融合。在一些實施例中，含有輕鏈結

合所需之位點的第一重鏈恆定區(CH1)存在於融合物中之至少一者中。將編碼免疫球蛋白重鏈融合物及(若需要)免疫球蛋白輕鏈之DNA插入獨立表現載體中，且共轉染至合適宿主生物體中。對於產生雙特異性抗體之其他細節，參見例如Suresh等人, *Methods in Enzymology*, 121: 210 (1986)。

人類及人類化抗體

抗EMC抗體或抗體部分可為人類化抗體或人類抗體。人類化形式之非人類(例如鼠類)抗體為嵌合免疫球蛋白、免疫球蛋白鏈或其片段(如Fv、Fab、Fab'、F(ab')₂、scFv或抗體之其他抗原結合子序列)，通常含有衍生自非人類免疫球蛋白之最小序列。人類化抗體包括人類免疫球蛋白(接受者抗體)，其中接受者CDR之殘基由具有所要特異性、親和力及能力的非人類物種(諸如小鼠、大鼠或兔)之CDR(供者抗體)的殘基替代。在一些情況下，人類免疫球蛋白之Fv構架殘基置換為相應非人類殘基。人類化抗體亦可包含在接受者抗體中及在所引入之CDR或構架序列中均不存在之殘基。一般而言，人類化抗體可包含基本上所有，至少一個且通常兩個可變域，其中所有或基本上所有CDR區對應於非人類免疫球蛋白之彼等CDR區且所有或基本上所有FR區為人類免疫球蛋白共同序列之彼等FR區。在一些實施例中，人類化抗體將包含免疫球蛋白恆定區(Fc)的至少一部分，通常為人類免疫球蛋白的至少一部分。參見例如Jones等人, *Nature*, 321: 522-525 (1986)；Riechmann等人, *Nature*, 332: 323-329 (1988)；Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.*, 2:593-596 (1992)。

一般而言，人類化抗體具有一或多個自非人類來源引入至其中之胺基酸殘基。此等非人類胺基酸殘基通常稱為「輸入」殘基，其通常取自「輸入」可變域。根據一些實施例，人類化可基本上遵循Winter及同事之方法(Jones等人, *Nature*, 321: 522-525 (1986)；

Riechmann 等人, *Nature*, 332: 323-327 (1988) ; Verhoeyen 等人, *Science*, 239: 1534-1536 (1988)), 藉由用人類抗體之對應序列取代啮齒動物CDR或CDR序列進行。因此, 此類「人類化」抗體為抗體(美國專利第4,816,567號), 其中基本上小於完整人類可變域已經來自非人類物種之對應序列取代。實際上, 人類化抗體通常為一些CDR殘基及可能一些FR殘基經來自啮齒動物抗體中之類似位點的殘基取代之人類抗體。

作為人類化之替代方案, 可產生人類抗體。舉例而言, 現在可能產生在免疫接種後能夠在不存在內源性免疫球蛋白產生的情況下產生人類抗體之完全譜系的轉殖基因動物(例如小鼠)。舉例而言, 已描述嵌合及生殖系突變小鼠中之抗體重鏈接合區(JH)基因的同型接合缺失導致完全抑制內源性抗體產生。將人類生殖系免疫球蛋白基因陣列轉移至此類生殖系突變小鼠中將導致在抗原攻擊時產生人類抗體。參見例如Jakobovits等人, *PNAS USA*, 90:2551 (1993); Jakobovits等人, *Nature*, 362:255-258 (1993); Bruggemann等人, *Year in Immunol.*, 7:33 (1993); 美國專利第5,545,806號、第5,569,825號、第5,591,669號; 第5,545,807號; 及WO 97/17852。或者, 可藉由將人類免疫球蛋白基因座引入轉殖基因動物(例如內源免疫球蛋白基因已部分或完全不活化的小鼠)中來製備人類抗體。在攻擊之後, 觀察人類抗體產生, 其在所有方面與在人類中所見極其類似, 包括基因重排、組裝及抗體譜系。此方法描述於例如美國專利第5,545,807號; 第5,545,806號; 第5,569,825號; 第5,625,126號; 第5,633,425號; 及第5,661,016號, 及Marks等人, *Bio/Technology*, 10: 779-783 (1992); Lonberg等人, *Nature*, 368: 856-859 (1994); Morrison, *Nature*, 368: 812-813 (1994); Fishwild等人, *Nature Biotechnology*, 14: 845-851 (1996); Neuberger, *Nature Biotechnology*, 14: 826 (1996); Lonberg 及 Huszar, *Intern. Rev.*

Immunol., 13: 65-93 (1995)中。

人類抗體亦可藉由活體外活化B細胞(參見美國專利5,567,610及5,229,275)或藉由使用此項技術中已知之各種技術，包括噬菌體呈現文庫產生。Hoogenboom及Winter, *J. Mol. Biol.*, 227:381 (1991)；Marks等人, *J. Mol. Biol.*, 222:581 (1991)。Cole等人及Boerner等人之技術亦可用於製備人類單株抗體。Cole等人, *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, 第77頁 (1985)及Boerner等人, *J. Immunol.*, 147(1): 86-95 (1991)。

多特異性抗體

在一些實施例中，抗EMC構築體為多特異性抗體。製造多特異性(例如雙特異性)抗體之適合方法為此項技術中熟知的。舉例而言，雙特異性抗體之產生可基於兩個免疫球蛋白重鏈/輕鏈對之共表現，其中兩對各具有不同特異性，且在締合後產生雜二聚體抗體(參見例如Milstein及Cuello, *Nature*, 305: 537-539 (1983)；WO 93/08829，及Traunecker等人, *EMBO J.* 10: 3655 (1991))。由於免疫球蛋白重鏈及輕鏈之隨機分類，此等融合瘤(四源融合瘤)產生十種不同抗體分子之潛在混合物，其中僅一種具有適當雙特異性結構。適當分子之純化通常藉由親和層析步驟實現。類似程序揭示於WO 93/08829中及Traunecker等人, *EMBO*, 10: 3655-3659 (1991)中。或者，重鏈及輕鏈之組合可藉由利用物種受限配對定向(參見例如Lindhofer等人, *J. Immunol.*, 155:219-225 (1995))且重鏈之配對可藉由使用CH3域之「杵-臼」工程改造定向(參見例如美國專利第5,731,168號；Ridgway等人, *Protein Eng.*, 9(7):617-621 (1996))。多特異性抗體亦可藉由工程改造靜電轉向效應以製造抗體Fc-雜二聚體分子而製得(參見例如WO 2009/089004A1)。在另一方法中，穩定雙特異性抗體可由受控Fab臂交換產生，其中具有相異抗原特異性及CH3域中之匹配點突變之兩個

親本抗體在還原條件下混合以允許分離、重組及再氧化而形成高度純雙特異性抗體。Labrigin等人, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 110(13):5145-5150 (2013)。包含重鏈/輕鏈對之混合物的此類抗體在本文中亦稱為「雜多聚體抗體」。

具有不同特異性之抗體或其抗原結合片段亦可經化學交聯以產生多特異性異結合物抗體。舉例而言，各對於不同抗原具有特異性之兩個F(ab')₂分子可經化學連接。Pullarkat等人, *Trends Biotechnol.*, 48:9-21 (1999)。已提出此類抗體可例如使免疫系統細胞靶向非所需細胞(美國專利第4,676,980號)且用於治療HIV感染。WO 91/00360；WO 92/200373；EP 03089。預期抗體可使用合成蛋白質化學中之已知方法(包括涉及交聯劑之方法)在活體外製備。舉例而言，免疫毒素可使用二硫鍵交換反應或藉由形成硫醚鍵來構築。出於此目的之適合試劑之實例包括亞胺基硫醇酯及4-巰基丁醯亞胺甲酯及揭示於例如美國專利第4,676,980號中之彼等。

在一些實施例中，多特異性抗體可使用重組DNA技術製備。舉例而言，雙特異性抗體可藉由融合兩個scFv，如藉由經肽連接子將其融合，產生串聯scFv而工程改造。串聯scFv之一個實例為雙特異性T細胞接合分子。雙特異性T細胞接合分子係藉由將抗CD3 scFv連接至對靶細胞之表面抗原，如腫瘤相關抗原(TAA)具有特異性之scFv，導致T細胞重定向至靶細胞而製得。Mack等人, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 92:7021-7025 (1995)；Brischwein等人, *Mol. Immunol.*, 43(8):1129-1143 (2006)。藉由縮短兩個可變域之間的肽連接子長度，其可防止自裝配且強制與第二多肽上之域配對，產生稱作雙功能抗體(Db)之緊湊型雙特異性抗體。Holliger等人, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 90:6444-6448 (1993)。Db之兩個多肽各自包含藉由太短而無法允許相同鏈上之兩個域之間的配對之連接子連接至VL之VH。因此，一個多肽之VH及VL

域被強制與另一多肽之互補VL及VH域配對，進而形成兩個抗原結合位點。以此型式之修飾，兩個多肽藉由另一肽連接子連接，產生單鏈雙功能抗體(scDb)。在Db型式之另一修飾中，雙親和力再靶向(DART)雙特異性抗體可由在各多肽之C端處之半胱胺酸殘基之間引入二硫鍵，視情況包括驅動所需雜二聚體結構之組裝之C端半胱胺酸殘基之前的域而產生。Veri等人, *Arthritis Rheum.*, 62(7):1933-1943 (2010)。此項技術中亦已知雙可變域免疫球蛋白(DVD-Ig™)，其中兩個單株抗體之標靶結合可變域經由天然存在之連接子組合以產生四價、雙特異性抗體。Gu及Ghayur, *Methods Enzymol.*, 502:25-41 (2012)。在另一型式中，藉由利用藉由衍生自人類A激酶錨定蛋白(AKAP)之錨定域的肽(AD2)對衍生自人類cAMP依賴性蛋白激酶(PKA)之調節次單元的肽(DDD2)進行二聚化製備塢鎖(DNL)、雙特異性抗體。Rossi等人, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 103:6841-6846 (2006)。

亦描述直接自重組細胞培養物製造及分離雙特異性抗體片段之各種技術。舉例而言，已使用白胺酸拉鏈產生雙特異性抗體。Kostelny等人, *J. Immunol.*, 148(5):1547-1553 (1992)。此方法亦可用於產生抗體同型二聚體。

抗EMC變異體

在一些實施例中，涵蓋本文所提供之抗體部分之胺基酸序列變異體。舉例而言，可能需要改進抗體部分之結合親和力及/或其他生物特性。抗體部分之胺基酸序列變異體可藉由將適當修飾引入編碼該抗體部分之核苷酸序列中或藉由肽合成製備。此類修飾包括例如在抗體部分之胺基酸序列內的殘基之缺失及/或插入及/或取代。可進行缺失、插入及取代之任何組合以獲得最終構築體，其限制條件為最終構築體具有所要特徵，例如抗原結合。

在一些實施例中，提供具有一或多個胺基酸取代之抗體部分變

異體。用於取代型突變誘發之相關位點包括HVR及FR。胺基酸取代可引入至相關抗體部分中且針對所需活性篩選產物，例如保留/提高之抗原結合、降低之免疫原性或改善之ADCC或CDC的產物。

保守取代顯示於下表5中。

表5：保守取代

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

胺基酸可根據共同側鏈特性分組為不同類別：

- 疏水性：正白胺酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile；
- 中性親水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；
- 酸性：Asp、Glu；
- 鹼性：His、Lys、Arg；
- 影響鏈定向之殘基：Gly、Pro；
- 芳族：Trp、Tyr、Phe。

非保守取代將必然伴有將此等類別中之一者之成員換成另一個類別。

例示性取代型變異體為親和力成熟抗體部分，其可例如，使用基於噬菌體呈現之親和力成熟技術便利地產生。簡言之，使一或多個CDR殘基突變且在噬菌體上呈現變異抗體部分且針對特定生物活性(例如結合親和力)篩選。改變(例如取代)可在HVR中進行以例如提高抗體部分親和力。此類改變可在HVR「熱點」(亦即由在體細胞成熟過程期間經歷高頻率突變之密碼子所編碼之殘基(參見例如Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008))，及/或特異性決定殘基(SDR))中進行，其中測試所得變異體VH或VL之結合親和力。藉由構築二級文庫及自二級文庫再選擇來達成親和力成熟已描述於Hoogenboom等人之*Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien等人編, Human Press, Totowa, NJ, (2001))中。

在親和力成熟之一些實施例中，藉由多種方法(例如易錯PCR、鏈改組或寡核苷酸引導之突變誘發)中之任一種將多樣性引入經選擇用於成熟之可變基因中。隨後產生二級庫。隨後篩選該庫以鑑別具有所需親和力之任何抗體部分變異體。引入多樣性之另一方法涉及HVR引導途徑，其中將若干HVR殘基(例如一次4-6個殘基)隨機分組。涉及抗原結合之HVR殘基可特定鑑別，例如使用丙胺酸掃描突變誘發或模型化來鑑別。特定言之，通常靶向CDR-H3及CDR-L3。

在一些實施例中，取代、插入或缺失可發生在一或多個HVR內，只要此等改變不實質上降低抗體部分結合抗原之能力即可。舉例而言，可在HVR中進行不實質上降低結合親和力之保守改變(例如如本文所提供之保守取代)。此類改變可在HVR「熱點」或SDR外。在上文所提供之變異VH及VL序列之某些實施例中，各HVR未改變或含有不超過一個、兩個或三個胺基酸取代。

可靶向突變誘發之用於鑑別抗體部分之殘基或區域之適用方法稱為「丙胺酸掃描突變誘發」，如由Cunningham及Wells (1989)

Science, 244:1081-1085所描述。在此方法中，鑑別殘基或目標殘基(例如帶電殘基，諸如arg、asp、his、lys及glu)之群且由中性或帶負電胺基酸(例如丙胺酸或聚丙胺酸)置換以測定抗體部分與抗原之相互相用是否受到影響。可在對初始取代顯示功能敏感性之胺基酸位置處引入其他取代。或者或另外，抗原-抗體部分複合體之晶體結構可經測定以鑑別抗體部分與抗原之間的接觸點。此類接觸殘基及鄰近殘基可作為取代候選物之標靶或排除在取代候選物之外。可篩選變體以判定其是否含有所需特性。

胺基酸序列插入包括在一個殘基至含有一百個或大於一百個殘基之多肽長度範圍內的胺基及/或羧基端融合物，以及具有單個或多個胺基酸殘基之序列內插入。末端插入之實例包括具有N末端甲硫胺醯基殘基之抗體部分。抗體部分之其他插入變異體包括抗體部分之N端或C端與酶(例如對於ADEPT而言)或延長抗體部分之血清半衰期之多肽的融合物。

Fc區變異體

在一些實施例中，一或多個胺基酸修飾可引入至本文所提供之全長抗EMC抗體之Fc區中，進而產生Fc區變異體。在一些實施例中，Fc區變異體具有增強的抗體依賴性細胞毒性(ADCC)效應功能，其通常與結合至Fc受體(FcR)相關。在一些實施例中，Fc區變異體具有降低的ADCC效應功能。存在可改變效應功能的Fc序列之變化或突變的多個實例。舉例而言，WO 00/42072及Shields等人 *J Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604 (2001) 描述具有提高或下降的與FcR之結合之抗體變異體。此等出版物之內容以引用之方式特別併入本文中。

抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)為治療性抗體對腫瘤細胞之作用機制。ADCC為細胞介導之免疫防禦，藉此免疫系統之效應細胞活躍地溶解靶細胞(例如癌細胞)，該細胞之膜表面抗原已與特異

性抗體(例如抗EMC抗體)結合。典型ADCC涉及NK細胞藉由抗體之活化。NK細胞表現為Fc受體之CD16。此受體識別結合至靶細胞表面之抗體之Fc部分，且結合至該Fc部分。NK細胞表面上之最常見Fc受體稱作CD16或FcγRIII。Fc受體與抗體之Fc區之結合導致NK細胞活化、溶細胞顆粒之釋放及隨之而來的靶細胞凋亡。ADCC對腫瘤細胞殺死之貢獻可藉由使用已經高親和力FcR轉染之NK-92細胞之特異性測試量測。結果相比於不表現FcR之野生型NK-92細胞。

在一些實施例中，本發明涵蓋包含具有一些但並非所有效應功能之Fc區的抗EMC構築體變異體，此使得其為抗EMC構築體活體內半衰期重要，而某些效應功能(如CDC及ADCC)不必要或有害之應用的所需候選物。可進行活體外及/或活體內細胞毒性分析以證實CDC及/或ADCC活性之降低/消除。舉例而言，可進行Fc受體(FcR)結合分析以確保抗體缺乏FcγR結合(因此可能缺乏ADCC活性)，但保留FcRn結合能力。用於介導ADCC之初級細胞NK細胞僅表現FcγRIII，而單核細胞表現FcγRI、FcγRII及FcγRIII。FcR在造血細胞上之表現概述於Ravetch及Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492 (1991)之第464頁之表3中。評估所關注的分子之ADCC活性之活體外分析之非限制性實例描述於美國專利第5,500,362號(參見例如Hellstrom, I.等人 *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 83:7059-7063 (1986))及Hellstrom, I等人, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 82:1499-1502 (1985)；美國專利第5,821,337號(參見Bruggemann, M.等人, *J. Exp. Med.* 166:1351-1361 (1987))中。或者，可採用非放射性分析方法(參見例如用於流動式細胞測量術的ACTI™非放射性細胞毒性分析(CellTechnology, Inc. Mountain View, Calif.；及CytoTox 96®非放射性細胞毒性分析(Promega, Madison, Wis.))。適用於此類分析之效應細胞包括周邊血液單核細胞(PBMC)及天然殺手(NK)細胞。或者或另外，所關注的分子之ADCC活性可活體內評估，

例如在如揭示於 Clynes 等人 *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95:652-656 (1998) 中之動物模型中。亦可進行 C1q 結合分析以確認抗體不能結合 C1q 且因此缺乏 CDC 活性。參見例如，WO 2006/029879 及 WO 2005/100402 中之 C1q 及 C3c 結合 ELISA。為了評估補體活化，可進行 CDC 分析(參見例如 Gazzano-Santoro 等人, *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996)；Cragg, M. S. 等人, *Blood* 101:1045-1052 (2003)；及 Cragg, M. S. 及 M. J. Glennie, *Blood* 103:2738-2743 (2004))。亦可使用此項技術中已知之方法(參見例如 Petkova, S. B. 等人, *Int'l. Immunol.* 18(12):1759-1769 (2006))進行 FcRn 結合及活體內清除率/半衰期測定。

具有降低的效應功能之抗體包括具有 Fc 區殘基 238、265、269、270、297、327 及 329 中的一或多者之取代之彼等(美國專利第 6,737,056 號)。此類 Fc 突變體包括在胺基酸位置 265、269、270、297 及 327 中之兩者或大於兩者處具有取代之 Fc 突變體，包括殘基 265 及 297 取代為丙胺酸之所謂的「DANA」Fc 突變體(美國專利第 7,332,581 號)。

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

在一些實施例中，提供包含含一或多個提高 ADCC 之胺基酸取代之變異 Fc 區的抗 EMC 構築體(例如全長抗 EMC 抗體)變異體。在一些實施例中，變異 Fc 區包含一或多個提高 ADCC 之胺基酸取代，其中取代係在變異 Fc 區之位置 298、333 及/或 334(殘基之 EU 編號)處。在一些實施例中，抗 EMC 構築體(例如全長抗 EMC 抗體)變異體包含其變異 Fc 區中之以下胺基酸取代：S298A、E333A 及 K334A。

在一些實施例中，在 Fc 區中進行導致改變(亦即提高或降低)之

C1q結合及/或補體依賴性細胞毒性(CDC)之改變，例如如美國專利第6,194,551號、WO 99/51642及Idusogie等人, *J. Immunol.* 164: 4178-4184 (2000)中所述。

在一些實施例中，提供包含含一或多個胺基酸取代之變異Fc區的抗EMC構築體(例如全長抗EMC抗體)變異體，該一或多個胺基酸取代增加半衰期及/或改良與新生兒Fc受體(FcRn)之結合。具有增加之半衰期及改良之與FcRn之結合的抗體描述於US2005/0014934A1 (Hinton等人)中。彼等抗體包含具有一或多個取代之Fc區，在其中Fc區與FcRn之結合得以改良。此類Fc變異體包括具有以下Fc區殘基中的一或多者處之取代之彼等：238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424或434，例如Fc區殘基434之取代(美國專利第7,371,826號)。

關於Fc區變異體之其他實例，亦參見Duncan及Winter, *Nature* 322:738-40 (1988)；美國專利第5,648,260號；美國專利第5,624,821號；及WO 94/29351。

涵蓋包含本文所述之Fc變異體中的任一者，或其組合之抗EMC構築體(如全長抗EMC抗體)。

糖基化變異體

在一些實施例中，本文提供之抗EMC構築體經改變以增加或減少抗EMC構築體經糖基化之程度。針對抗EMC構築體之糖基化位點添加或缺失可藉由改變抗EMC構築體或其多肽部分之胺基酸序列，使得產生或移除一或多個糖基化位點而便利地實現。

在抗EMC構築體包含Fc區之情況下，可改變連接於其上之碳水化合物。由哺乳動物細胞產生之天然抗體通常包含分支鏈雙觸角寡糖，其一般藉由N鍵連接至Fc區之CH2域的Asn297。參見例如Wright

等人 *TIBTECH* 15:26-32 (1997)。寡醣可包括各種碳水化合物，例如甘露糖、N-乙醯基葡萄糖胺(GlcNAc)、半乳糖及唾液酸，以及連接至雙觸寡醣結構之「主幹」中之GlcNAc的海藻糖。在一些實施例中，可進行本發明之抗EMC構築體中之寡醣之修飾以產生具有某些改良的特性之抗EMC構築體變異體。

在一些實施例中，提供包含Fc區之抗EMC構築體(如全長抗EMC抗體)變異體，其中附接至Fc區之碳水化合物結構具有減少之海藻糖或不具有海藻糖，其可改良ADCC功能。特定言之，本文中涵蓋相對於野生型CHO細胞中產生之相同抗EMC構築體上之海藻糖的量具有減少之海藻糖的抗EMC構築體。亦即其特徵為具有的海藻糖之量比其在由天然CHO細胞(例如產生天然糖基化模式之CHO細胞，如含有天然FUT8基因之CHO細胞)產生之情況下將另外具有之量低。在一些實施例中，抗EMC構築體為其中小於約50%、40%、30%、20%、10%或5%在其上之N-鍵聯聚糖包含海藻糖之構築體。舉例而言，此類抗EMC構築體中之海藻糖的量可為1%至80%、1%至65%、5%至65%，或20%至40%。在一些實施例中，抗EMC構築體為其中在其上之N-鍵聯聚糖中無一者包含海藻糖，即其中抗EMC構築體完全不含海藻糖，或不具有海藻糖或經去海藻糖基化之構築體。海藻糖之量藉由計算相對於如藉由MALDI-TOF質譜分析量測之附接於Asn 297之所有醣結構(例如複合、雜交及高甘露糖結構)的總和，糖鏈內Asn297處之海藻糖之平均量來確定，如例如WO 2008/077546中所描述。Asn297係指位於Fc區中之約位置297(Fc區殘基之Eu編號)處之天冬醯胺殘基；然而，由於抗體中之微小序列變化，Asn297亦可位於位置297上游或下游約 ± 3 胺基酸處，即在位置294與300之間。此類海藻糖基化變異體可具有改良之ADCC功能。參見例如美國專利公開案第US 2003/0157108號(Presta, L.)；第US 2004/0093621號(Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd)。

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

抗EMC構築體(如全長抗EMC抗體)變異體另外具有平分寡糖，例如其中附接至抗EMC構築體之Fc區之二觸角寡糖藉由GlcNAc平分。此類抗EMC構築體(如全長抗EMC抗體)變異體可具有減少之海藻糖基化及/或改良之ADCC功能。此類抗體變異體之實例描述於例如WO 2003/011878 (Jean-Mairet等人)；美國專利第6,602,684號(Umana等人)；US 2005/0123546 (Umana等人)及Ferrara等人, *Biotechnology and Bioengineering*, 93(5): 851-861 (2006)中。亦提供在附接至Fc區之寡糖中具有至少一個半乳糖殘基之抗EMC構築體(如全長抗EMC抗體)變異體。此類抗EMC構築體變異體可具有改良之CDC功能。此類抗體變異體描述於例如WO 1997/30087 (Patel等人)；WO 1998/58964 (Raju, S.)；及WO 1999/22764 (Raju, S.)中。

在一些實施例中，包含Fc區之抗EMC構築體(如全長抗EMC抗體)變異體能夠結合至FcγRIII。在一些實施例中，包含Fc區之抗EMC構築體(如全長抗EMC抗體)變異體在人類效應細胞存在下具有ADCC活性或相比於包含人類野生型IgG1Fc區之另外相同抗構築體(如全長抗EMC抗體)在人類效應細胞存在下具有增加之ADCC活性。

半胱胺酸工程改造變異體

在一些實施例中，可能需要產生半胱胺酸工程改造抗EMC構築體(如全長抗EMC抗體)，其中一或多個胺基酸殘基經半胱胺酸殘基取代。在一些實施例中，經取代之殘基存在於抗EMC構築體之可接近位點處。藉由用半胱胺酸取代彼等殘基，反應性硫醇基進而定位於抗EMC構築體之可接近位點處且可用於將抗EMC構築體結合至其他部分，如藥物部分或連接子-藥物部分，以產生抗EMC免疫結合物(如本文中進一步描述)。半胱胺酸工程改造抗EMC構築體(如全長抗EMC抗體)可如例如美國專利第7,521,541號中所描述產生。

衍生物

在一些實施例中，本文中所提供之抗EMC構築體可經進一步修飾以含有此項技術中已知且可易於獲得之額外非蛋白質部分。適合於抗EMC構築體衍生作用之部分包括(但不限於)水溶性聚合物。水溶性聚合物之非限制性實例包括(但不限於)聚乙二醇(PEG)、乙二醇/丙二醇共聚物、羧甲基纖維素、聚葡萄糖、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯啶酮、聚-1,3-二氧雜環戊烷、聚-1,3,6-三惡烷、乙烯/順丁烯二酸酐共聚物、聚胺基酸(均聚物或無規共聚物)及聚葡萄糖或聚(n-乙烯吡咯啶酮)聚乙二醇、丙二醇均聚物、聚氧化丙烯/氧化乙烯共聚物、聚氧乙烯多元醇(例如甘油)、聚乙烯醇及其混合物。聚乙二醇丙醛因其於水中之穩定性而可具有製造優勢。聚合物可具有任何分子量，且可為分支鏈或未分支的。連接至抗EMC構築體之聚合物之數量可變化，且若連接

大於一種聚合物，則其可為相同或不同分子。一般而言，用於衍生作用之聚合物之數目及/或類型可基於包括(但不限於)待改良抗EMC構築體之特定特性或功能、抗EMC構築體衍生物是否將用於限定條件下之療法等因素來確定。

在一些實施例中，提供抗EMC構築體與可藉由暴露於輻射選擇性地加熱之非蛋白質部分之結合物。在一些實施例中，非蛋白質部分為碳奈米管(Kam等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 11600-11605 (2005))。輻射可具有任何波長，且包括(但不限於)不損害普通細胞但將非蛋白質部分加熱至殺死抗EMC構築體-非蛋白質部分近側之細胞之溫度的波長。

CAR效應細胞製備

在一態樣中，本發明提供表現抗EMC CAR之效應細胞(如淋巴細胞，例如T細胞)。本文提供製備表現抗EMC CAR之效應細胞(如T細胞)(抗EMC CAR效應細胞，如抗EMC CAR T細胞)之例示性方法。

在一些實施例中，抗EMC CAR效應細胞(如T細胞)可由將包含抗EMC CAR(例如包含抗EMC抗體部分及CD28及CD3 ζ 胞內信號傳導序列之CAR)之載體(包括例如慢病毒載體)引入至效應細胞(如T細胞)中產生。在一些實施例中，本發明之抗EMC CAR效應細胞(如T細胞)能夠在活體內複製，導致可導致NY-ESO-1陽性疾病(如癌症，例如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、非小細胞肺癌(NSCLC)、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌)之持續控制的長期持久性。

在一些實施例中，本發明涉及投與表現抗EMC CAR之遺傳修飾T細胞以使用淋巴細胞輸注治療患有NY-ESO-1陽性疾病或處於患有NY-ESO-1陽性疾病風險下之患者。在一些實施例中，自體淋巴細胞輸注用於治療。自體PBMC收集自需要治療之患者且T細胞使用本文所描

述及此項技術中已知之方法活化及擴增，且接著輸注回患者中。

在一些實施例中，抗EMC CAR T細胞表現包含抗EMC抗體部分之抗EMC CAR(在本文中亦稱為「抗EMC CAR T細胞」)。在一些實施例中，抗EMC CAR T細胞表現包含含抗EMC抗體部分之細胞外域及包含CD3 ζ 及CD28之胞內信號傳導序列之細胞內域的抗EMC CAR。本發明之抗EMC CAR T細胞可經歷穩固活體內T細胞擴增且可產生在血液及骨髓中持續延長時間量保持於高含量下之EMC特異性記憶細胞。在一些實施例中，輸注至患者中之本發明之抗EMC CAR T細胞可活體內消除患有NY-ESO-1陽性疾病之患者中之EMC呈遞細胞，如EMC呈遞癌細胞。在一些實施例中，輸注至患者中之本發明之抗EMC CAR T細胞可在患有難以用至少一種習知治療來治療之NY-ESO-1陽性疾病之患者中活體內消除EMC呈遞細胞，如EMC呈遞癌細胞。

在T細胞擴增及基因修飾之前，T細胞來源獲自個體。T細胞可獲自多種來源，包括周邊血液單核細胞、骨髓、淋巴結組織、臍帶血、胸腺組織、來自感染位點之組織、腹水、肋膜積液、脾組織及腫瘤。在本發明之一些實施例中，可使用任何數目的此項技術中可用之T細胞株。在本發明之一些實施例中，T細胞可獲自使用任何數目的熟習此項技術者已知之技術(諸如Ficoll™分離)自個體收集之血液單元。在一些實施例中，藉由清除術獲得來自個體之循環血液的細胞。清除術產物通常含有淋巴細胞，包括T細胞、單核細胞、粒細胞、B細胞、其他成核白血球、紅血球及血小板。在一些實施例中，藉由清除術收集之細胞可經洗滌以移除血漿部分且將細胞置於適當緩衝液或培養基中以用於後續處理步驟。在一些實施例中，細胞用磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)洗滌。在一些實施例中，洗滌溶液缺乏鈣且可能缺乏鎂或可能缺乏許多(若並非全部)二價陽離子。如一般技術者將容易瞭解，洗滌步驟可藉由熟習此項技術者已知的方法實現，諸如藉由根據製造商說

明書使用半自動「流通」離心(例如Cobe 2991細胞處理器、Baxter CytoMate或Haemonetics細胞保存器5)。在洗滌之後，細胞可再懸浮於多種生物相容性緩衝劑中，如 Ca^{2+} 游離、 Mg^{2+} 游離PBS、PlasmaLyte A或其他具有或不具有緩衝劑之生理鹽水溶液。或者，可移除清除術樣本之非所要組分且將細胞直接再懸浮於培養基中。

在一些實施例中，藉由溶解紅血球及例如藉由經PERCOLL™梯度離心或藉由逆流離心淘析耗盡單核細胞而自周邊血液淋巴細胞分離T細胞。T細胞之特異性亞群(諸如 CD3^+ 、 CD28^+ 、 CD4^+ 、 CD8^+ 、 CD45RA^+ 及 CD45RO^+ T細胞)可藉由正選擇或負選擇技術進一步分離。舉例而言，在一些實施例中，藉由與抗CD3/抗CD28 (亦即3×28)結合之珠粒(諸如DYNABEADS® M-450 CD3/CD28 T)一起培育足以正選擇所要T細胞之時間來分離T細胞。在一些實施例中，時段為約30分鐘。在一些實施例中，時段在30分鐘至36小時或更長及其間的所有整數值範圍內。在一些實施例中，時段為至少1、2、3、4、5或6小時。在一些實施例中，時段為10至24小時。在一些實施例中，培育時段為24小時。為了自患有白血病之患者分離T細胞，使用較長培育時間(諸如24小時)可提高細胞產量。在相較於其他細胞類型存在很少T細胞的任何情形中可使用較長培育時間分離T細胞，諸如自腫瘤組織或免疫功能不全個體分離腫瘤浸潤淋巴細胞(TIL)。此外，使用較長培育時間可提高捕捉 CD8^+ T細胞之效率。因此，藉由僅縮短或延長允許T細胞結合至CD3/CD28珠粒之時間及/或藉由增加或減小珠粒於T細胞之比率，可對於或針對在培養起始時或方法期間之其他時間點優先選擇T細胞亞群。另外，藉由增加或減小珠粒或其他表面上抗CD3及/或抗CD28抗體之比率，對於或針對在培養起始時或在其他所要時間點可優先選擇T細胞亞群。熟習此項技術者將認識到本發明之上下文中亦可使用多個選擇回合。在一些實施例中，可能需要進行選擇程序

且在活化及擴增過程中使用「未經選擇之」細胞。「未經選擇之」細胞亦可進行其他選擇回合。

藉由負選擇增濃T細胞群體可使用針對負選擇之細胞所獨特之表面標記的抗體之組合來實現。一種方法為經負磁性免疫黏附或流動式細胞量測術分選及/或選擇細胞，該負磁性免疫黏附或流動式細胞量測術使用針對負選擇細胞上存在之細胞表面標記物之單株抗體混合物。舉例而言，為了藉由負選擇增濃CD4⁺細胞，單株抗體混合液通常包括CD 14、CD20、CD11b、CD 16、HLA-DR及CD8之抗體。在一些實施例中，可能需要增濃或正選擇調節T細胞，其通常表現CD4⁺、CD25⁺、CD62Lhi、GITR⁺及FoxP3⁺。或者，在一些實施例中，T調節細胞藉由抗CD25結合珠粒或其他類似選擇方法耗盡。

為了藉由正選擇或負選擇分離所要細胞群體，細胞濃度及表面(例如粒子，諸如珠粒)可變化。在一些實施例中，可能需要顯著減小珠粒及細胞混合在一起之體積(亦即增加細胞濃度)，以確保細胞及珠粒之最大接觸。舉例而言，在一些實施例中，使用約20億個細胞/毫升之濃度。在一些實施例中，使用約10億個細胞/毫升之濃度。在一些實施例中，使用大於約100,000,000個細胞/毫升。在一些實施例中，使用約10,000,000、15,000,000、20,000,000、25,000,000、30,000,000、35,000,000、40,000,000、45,000,000或50,000,000中的任一者個細胞/毫升之濃度。在一些實施例中，使用約75,000,000、80,000,000、85,000,000、90,000,000、95,000,000或100,000,000中的任一者個細胞/毫升之濃度。在一些實施例中，使用約125,000,000或約150,000,000個細胞/毫升之濃度。使用高濃度可導致增加之細胞產量、細胞活化及細胞擴增。此外，使用高細胞濃度使得更有效捕捉可能弱表現所關注目標抗原之細胞(諸如CD28陰性T細胞)或自存在許多腫瘤細胞之樣品(亦即白血病血液、腫瘤組織等)更有效捕捉細胞。此

類細胞群體可具有治療價值且將需要獲得。舉例而言，使用高細胞濃度允許更有效選擇通常具有較弱CD28表現之CD8⁺ T細胞。

在本發明之一些實施例中，T細胞直接獲自治療之後的患者。就此而言，已觀測到在某些癌症治療之後，特定言之使用破壞免疫系統之藥物治療之後，在患者通常將自治療恢復的時段期間治療之後不久，獲得之T細胞品質可最佳或其離體擴增之能力得到改良。同樣，在使用本文所描述之方法離體操縱之後，此等細胞之增強移植及活體內擴增可呈較佳狀態。因此，本發明之上下文內涵蓋在此恢復階段期間收集血細胞(包括T細胞)、樹突狀細胞或造血譜系之其他細胞。此外，在一些實施例中，移動(例如用GM-CSF移動)及調節方案可用於建立個體內之條件，其中尤其在治療之後的制定時間窗期間宜再增殖、再循環、再生及/或擴增特定細胞類型。說明性細胞類型包括T細胞、B細胞、樹突狀細胞及免疫系統之其他細胞。

無論在基因修飾T細胞以表現所需抗EMC CAR之前或之後，T細胞可一般使用如例如以下各者中所描述之方法活化及擴增：美國專利第 6,352,694 ； 6,534,055 ； 6,905,680 ； 6,692,964 ； 5,858,358 ； 6,887,466 ； 6,905,681 ； 7,144,575 ； 7,067,318 ； 7,172,869 ； 7,232,566 ； 7,175,843 ； 5,883,223 ； 6,905,874 ； 6,797,514 ； 6,867,041 號；及美國專利申請公開案第20060121005號。

一般而言，本發明之T細胞藉由使與其連接之表面與刺激CD3/TCR複合體相關信號之藥劑及刺激T細胞表面上之共刺激分子之配位體接觸而擴增。特定言之，T細胞群體可諸如藉由與抗CD3抗體或其抗原結合片段，或固定於表面上之抗CD2抗體接觸，或藉由同與鈣離子載體結合之蛋白激酶C活化劑(例如苔蘚蟲素)接觸而刺激。為了共刺激T細胞表面上之輔助分子，使用結合輔助分子之配位體。舉例而言，T細胞群體可與抗CD3抗體及抗CD28抗體在適於刺激T細胞

增殖之條件下接觸。為了刺激CD4⁺ T細胞或CD8⁺ T細胞之增殖，抗CD3抗體及抗CD28抗體。抗CD28抗體之實例包括9.3、B-T3、XR-CD28 (Diacclone, Besançon, France)，可如此項技術中通常已知之其他方法一般可使用(Berg等人, *Transplant Proc.* 30(8):3975-3977, 1998；Haanen等人, *J. Exp. Med.* 190(9):1319-1328, 1999；Garland等人, *J. Immunol Meth.* 227(1-2):53-63, 1999)。

免疫結合物製備

抗EMC免疫結合物可使用此項技術中已知之任何方法製備。參見例如WO 2009/067800、WO 2011/133886及美國專利申請公開案第2014322129號，其以全文引用之方式併入本文中。

抗EMC免疫結合物之抗EMC抗體部分可藉由任何方法「附接至」效應分子，抗EMC抗體部分可藉由該方法與效應分子相關聯，或連接至效應分子。舉例而言，抗EMC免疫結合物之抗EMC抗體部分可藉由化學或重組方法附接至效應分子。製備融合物或結合物之化學方法為此項技術中已知且可用於製備抗EMC免疫結合物。用於結合抗EMC抗體部分及效應分子之方法必須能夠在不干擾結合蛋白結合至靶細胞上之抗原之能力的情況下使結合蛋白與效應分子接合。

抗EMC免疫結合物之抗EMC抗體部分可間接連接至效應分子。舉例而言，抗EMC免疫結合物之抗EMC抗體部分可直接連接至含有若干類型中的一者之效應分子之脂質體。效應分子及/或抗EMC抗體部分亦可結合至固體表面。

在一些實施例中，抗EMC免疫結合物之抗EMC抗體部分及效應分子均為蛋白質且可使用此項技術中熟知之技術結合。存在數百可結合兩種蛋白質之可用交聯劑。(參見例如「Chemistry of Protein Conjugation and Crosslinking」. 1991, Shans Wong, CRC Press, Ann Arbor)。交聯劑一般基於可用或插入抗EMC抗體部分及/或效應分子

上之反應性官能基選擇。另外，若不存在反應性基團，則可使用光可活化交聯劑。在某些情況下，可能需要在抗EMC抗體部分與效應分子之間包括間隔基。此項技術已知之交聯劑包括同型雙官能藥劑：戊二醛、二亞胺代己二酸二甲酯及雙(重氮聯苯胺)及異型雙官能藥劑：間順丁烯二醯亞胺基苯甲醯基-N-羥基丁二醯亞胺及磺酸基-間順丁烯二醯亞胺基苯甲醯基-N-羥基丁二醯亞胺。

在一些實施例中，抗EMC免疫結合物之抗EMC抗體部分可經特異性殘基工程改造以化學連接效應分子。此項技術已知之用於化學連接分子之特異性殘基包括離胺酸及半胱胺酸。基於插入抗EMC抗體部分上及效應分子上可用之反應性官能基選擇交聯劑。

抗EMC免疫結合物亦可使用重組DNA技術製備。在此情況下，編碼抗EMC抗體部分之DNA序列融合至編碼效應分子之DNA序列，產生嵌合DNA分子。嵌合DNA序列轉染至表現融合蛋白之宿主細胞中。融合蛋白可自細胞培養物回收且使用此項技術中已知之技術純化。

將效應分子(其為標記)連接至結合蛋白之實例包括Hunter等人, *Nature* 144:945 (1962); David等人, *Biochemistry* 13:1014 (1974); Pain等人, *J. Immunol. Meth.* 40:219 (1981); Nygren, J. *Histochem. and Cytochem.* 30:407 (1982); Wensel及Meares, *Radioimmunoimaging And Radioimmunotherapy*, Elsevier, N.Y. (1983); 及Colcher等人, 「Use Of Monoclonal Antibodies As Radiopharmaceuticals For The Localization Of Human Carcinoma Xenografts In Athymic Mice」, *Meth. Enzymol.*, 121:802-16 (1986)中所述之方法。

放射性或其他標記可以已知方式併入免疫結合物中。舉例而言，肽可生物合成或可藉由化學胺基酸合成、使用適合胺基酸前驅體(包括例如氟-19替代氫)而合成。如⁹⁹Tc或¹²³I、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re及¹¹¹In之

標記可經由肽中之半胱胺酸殘基連接。釷-90可經由離胺酸殘基連接。 IODOGEN方法(Fraker等人 *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 80:49-57 (1978))可用以併入碘-123。「 Monoclonal Antibodies in Immunosciintigraphy」 (Chatal, CRC Press 1989)詳細描述其他方法。

可使用多種雙功能蛋白質偶合劑製得抗體部分與細胞毒性劑之免疫結合物，該等雙功能蛋白質偶合劑諸如N-丁二醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫基)丙酸酯(SPDP)、丁二醯亞胺基-4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1-甲酸酯(SMCC)、亞胺基硫雜環戊烷(IT)、亞胺基酯之雙功能衍生物(諸如二亞胺代己二酸二甲酯HCl)、活性酯(諸如辛二酸二丁二醯亞胺基酯)、醛(諸如戊二醛)、雙疊氮基化合物(諸如雙(對疊氮基苯甲醯基)己二胺)、雙重氮衍生物(諸如雙(對重氮苯甲醯基)乙二胺)、二異氰酸酯(諸如甲苯2,6-二異氰酸酯)及雙活性氟化合物(諸如1,5-二氟-2,4-二硝基苯)。舉例而言，蓖麻毒素免疫毒素可如Vitetta等人, *Science* 238:1098 (1987)中所述來製備。碳14標記之1-異硫氰基苯甲基-3-甲基二伸乙三胺五乙酸(MX-DTPA)為用於將放射性核苷酸結合於抗體之例示性螯合劑。參見例如WO94/11026。連接子可為促進細胞中之細胞毒性藥物釋放之「可裂解連接子」。舉例而言，可使用酸不穩定連接子、肽酶敏感連接子、光不穩定性連接子、二甲基連接子或含二硫鍵連接子(Chari等人, *Cancer Research* 52:127-131 (1992)；美國專利第5,208,020號)。

本發明之抗EMC免疫結合物明確地涵蓋(但不限於)用交聯劑試劑製備之ADC：BMPS、EMCS、GMBS、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMCC、SMPB、SMPH、磺基-EMCS、磺基-GMBS、磺基-KMUS、磺基-MBS、磺基-SIAB、磺基-SMCC及磺基-SMPB，及SVSB (丁二醯亞胺基-(4-乙烯基磺)苯甲酸酯)，其市售可得(例如來自Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, Ill., U.S.A)。參

見第467-498頁, 2003-2004 Applications Handbook and Catalog。

醫藥組合物

本文亦提供包含抗EMC構築體之組合物(如醫藥組合物, 在本文中亦稱為調配物)。在一些實施例中, 組合物進一步包含與抗EMC構築體相關之細胞(如效應細胞, 例如T細胞)。在一些實施例中, 提供包含抗EMC構築體及醫藥學上可接受之載劑之醫藥組合物。在一些實施例中, 醫藥組合物進一步包含與抗EMC構築體相關之細胞(如效應細胞, 例如T細胞)。

抗EMC構築體之適合調配物藉由將具有所需純度之抗EMC構築體與視情況存在之醫藥學上可接受之載賦形劑或穩定劑(*Remington's Pharmaceutical Sciences* 第16版, Osol, A.編 (1980))以凍乾調配物或水溶液形式混合而獲得。在所採用之劑量及濃度下, 可接受之載劑、賦形劑或穩定劑對接受者無毒, 且其包括緩衝劑, 諸如磷酸鹽、檸檬酸鹽及其他有機酸; 抗氧化劑, 包括抗壞血酸及甲硫胺酸; 防腐劑(諸如氯化十八烷基二甲基苯甲基銨; 氯化六羥季銨; 氯化苯甲烴銨; 苄索氯銨; 酚; 丁醇或苯甲醇; 對羥苯甲酸烷酯, 諸如對羥基苯甲酸甲酯或對羥基苯甲酸丙酯; 兒茶酚; 間苯二酚; 環己醇; 3-戊醇及間甲酚); 低分子量(小於約10個殘基)多肽; 蛋白質, 諸如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白; 親水性聚合物, 諸如聚乙烯吡咯啶酮; 胺基酸, 諸如甘胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺、組胺酸、精胺酸或離胺酸; 單醣、雙醣及其他碳水化合物, 包括葡萄糖、甘露糖或糊精; 螯合劑, 諸如EDTA; 糖, 諸如蔗糖、甘露糖醇、海藻糖或山梨糖醇; 成鹽相對離子, 諸如鈉; 金屬複合體(例如, Zn-蛋白質複合體); 及/或非離子界面活性劑, 諸如TWEENTM、PLURONICSTM或聚乙二醇(PEG)。例示性調配物描述於WO98/56418中, 該專利以引用的方式明確併入本文中。適用於皮下投與之凍乾調配物描述於WO97/04801

中。此類凍乾調配物可藉由適合稀釋劑復原至高蛋白質濃度且經復原調配物可皮下投與至本文中之待治療個體。脂質體(Lipofectin/liposome)可用於將本發明之抗EMC構築體傳遞至細胞中。

本文中之調配物亦可含有除抗EMC構築體以外之一或多種活性化合物(視治療之特定適應症之需要)，較佳具有不會不利地彼此影響之互補活性之彼等。舉例而言，可能需要進一步提供除抗EMC構築體以外之抗贅生劑、生長抑制劑、細胞毒性劑或化學治療劑。此類分子宜以對預期目的有效之量存在於組合中。此類其他藥劑之有效量視存在於調配物中之抗EMC構築體之量、疾病或病症或治療之類型及如上文所述之其他因素而定。此等藥劑一般以如本文所述之相同劑量及投與途徑或迄今為止採用之劑量的約1%至99%使用。

亦可例如藉由凝聚技術或藉由界面聚合將抗EMC構築體包埋於所製備之微膠囊中，例如羥基甲基纖維素或明膠微膠囊及聚-(甲基丙烯酸甲酯)微膠囊分別包埋於膠狀藥物傳遞系統(例如脂質體、白蛋白微球體、微乳液、奈米粒子及奈米囊劑)中或於巨乳液中。此類技術揭示於*Remington's Pharmaceutical Sciences* 第16版, Osol, A.編(1980)中。可製備持續釋放製劑。

可製備抗EMC構築體之持續釋放製劑。持續釋放製劑之適合實例包括含有抗體(或其片段)之固體疏水性聚合物的半滲透基質，該等基質呈成形物品，例如膜或微膠囊形式。持續釋放基質之實例包括聚酯、水凝膠(例如，聚(甲基丙烯酸2-羥乙酯)或聚(乙烯醇))、聚乳酸交酯(美國專利第3,773,919號)、L-麩胺酸與乙基-L-麩胺酸之共聚物、不可降解乙烯-乙酸乙烯酯、諸如LUPRON DEPOT TM(由乳酸-乙醇酸共聚物及亮丙瑞林乙酸鹽(leuprolide acetate)構成之可注射微球體)之可降解乳酸-乙醇酸共聚物及聚-D-(-)-3-羥基丁酸。雖然諸如乙烯-乙酸乙烯酯及乳酸-乙醇酸之聚合物允許持續超過100天釋放分子，但某些

水凝膠持續較短時間段釋放蛋白質。若囊封抗體長時間留存於體內，則其可因在37℃下暴露於水分而變性或聚集，引起生物活性損失及可能的免疫原性變化。可取決於相關機制而設計抗EMC構築體穩定化之合理策略。舉例而言，若發現聚集機制係經由巯基-二硫化物互換而形成分子間S-S鍵，則穩定化可藉由修飾巯基殘基、自酸性溶液凍乾、控制水分含量、使用適當添加劑及開發特定聚合基質組合物來達成。

在一些實施例中，抗EMC構築體調配於包含檸檬酸鹽、NaCl、乙酸鹽、丁二酸鹽、甘胺酸、聚山梨醇酯80(Tween 80)或前述之任何組合之緩衝液中。在一些實施例中，抗EMC構築體調配於包含約100 mM至約150 mM甘胺酸之緩衝液中。在一些實施例中，抗EMC構築體調配於包含約50 mM至約100 mM NaCl之緩衝液中。在一些實施例中，抗EMC構築體調配於包含約10 mM至約50 mM乙酸鹽之緩衝液中。在一些實施例中，抗EMC構築體調配於包含約10 mM至約50 mM丁二酸鹽之緩衝液中。在一些實施例中，抗EMC構築體調配於包含約0.005%至約0.02%聚山梨醇酯80之緩衝液中。在一些實施例中，抗EMC構築體調配於pH在約5.1與5.6之間的緩衝液中。在一些實施例中，抗EMC構築體調配於包含10 mM檸檬酸鹽、100 mM NaCl、100mM甘胺酸及0.01%聚山梨醇酯80之緩衝液中，其中調配物在pH 5.5下。

體內投與之調配物必須為無菌的。此藉由例如經由無菌過濾膜過濾容易地實現。

使用抗EMC構築體之治療方法

本發明之抗EMC構築體及/或組合物可向個體(例如哺乳動物，如人類)投與以治療與NY-ESO-1表現相關之疾病及/或病症(在本文中亦稱為「NY-ESO-1陽性」疾病或病症)，包括(例如)NY-ESO-1陽性癌症

(如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、NSCLC、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌)。本申請案因此在一些實施例中提供治療個體中之NY-ESO-1陽性疾病(如癌症)之方法，其包含向個體投與有效量的包含含抗EMC抗體部分之抗EMC構築體，如本文所述之抗EMC構築體中的任一者之組合物(如醫藥組合物)。在一些實施例中，組合物進一步包含與抗EMC構築體相關之細胞(如效應細胞)。在一些實施例中，癌症選自例如由以下組成之群：膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、NSCLC、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤及甲狀腺癌。

舉例而言，在一些實施例中，提供治療個體中之NY-ESO-1陽性疾病之方法，其包含向個體投與有效量的包含含抗EMC抗體部分之抗EMC構築體的組合物，該抗體部分特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體。在一些實施例中，NY-ESO-1肽為NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A02。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A*02:01。在一些實施例中，抗EMC構築體為非天然存在的。在一些實施例中，抗EMC構築體為全長抗體。在一些實施例中，抗EMC構築體為多特異性(如雙特異性)分子。在一些實施例中，抗EMC構築體為嵌合抗原受體。在一些實施例中，抗EMC構築體為免疫結合物。在一些實施例中，組合物進一步包含與抗EMC構築體相關之細胞(如效應細胞)。在一些實施例中，NY-ESO-1陽性疾病為癌症。在一些實施例中，癌症為例如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、NSCLC、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌。在一些實施例中，個體為人類。

在一些實施例中，提供治療個體中之NY-ESO-1陽性疾病之方

法，其包含向個體投與有效量的包含含抗EMC抗體部分之抗EMC構築體的組合物，該抗體部分特異性結合於包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之複合體。在一些實施例中，抗EMC構築體為非天然存在的。在一些實施例中，抗EMC構築體為全長抗體。在一些實施例中，抗EMC構築體為多特異性(如雙特異性)分子。在一些實施例中，抗EMC構築體為嵌合抗原受體。在一些實施例中，抗EMC構築體為免疫結合物。在一些實施例中，組合物進一步包含與抗EMC構築體相關之細胞(如效應細胞)。在一些實施例中，NY-ESO-1陽性疾病為癌症。在一些實施例中，癌症為例如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、NSCLC、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌。在一些實施例中，個體為人類。

在一些實施例中，提供一種治療個體中之NY-ESO-1陽性疾病之方法，其包含向個體投與有效量的包含抗EMC構築體之組合物，該構築體包含特異性結合於包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之複合體的抗EMC抗體部分，其中抗EMC抗體部分與以下者交叉反應：i)包含具有SEQ ID NO: 7或9之胺基酸序列的NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；ii)包含具有SEQ ID NO: 7、10及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；iii)包含具有SEQ ID NO: 7、9、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；iv)包含具有SEQ ID NO: 7、9、10、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；v)包含具有SEQ ID NO: 7、9、10、12、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；或vi)包含具有SEQ ID NO: 7、9、11、

12、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者。在一些實施例中，抗EMC構築體為非天然存在的。在一些實施例中，抗EMC構築體為全長抗體。在一些實施例中，抗EMC構築體為多特異性(如雙特異性)分子。在一些實施例中，抗EMC構築體為嵌合抗原受體。在一些實施例中，抗EMC構築體為免疫結合物。在一些實施例中，組合物進一步包含與抗EMC構築體相關之細胞(如效應細胞)。在一些實施例中，NY-ESO-1陽性疾病為癌症。在一些實施例中，癌症為例如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、NSCLC、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌。在一些實施例中，個體為人類。

在一些實施例中，提供一種治療個體症狀NY-ESO-1陽性疾病之方法，其包含向個體投與有效量的包含抗EMC構築體之組合物，該構築體包含特異性結合於包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之複合體的抗EMC抗體部分，其中抗EMC抗體部分與以下者交叉反應：i)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02及HLA-A*02:06中的任一者之複合體中之每一者；ii)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02、HLA-A*02:03及HLA-A*02:06中的任一者之複合體中之每一者；iii)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:05及HLA-A*02:06中的任一者之複合體中之每一者；或iv)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:05、HLA-A*02:06及HLA-A*02:11中的任一者之複合體中之每一者；及b)效應分子。在一些實施例中，抗EMC抗體部分不結合至包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:07之複合體。在一些實施例中，抗EMC構築體為非天然存在的。在一些

實施例中，抗EMC構築體為全長抗體。在一些實施例中，抗EMC構築體為多特異性(如雙特異性)分子。在一些實施例中，抗EMC構築體為嵌合抗原受體。在一些實施例中，抗EMC構築體為免疫結合物。在一些實施例中，組合物進一步包含與抗EMC構築體相關之細胞(如效應細胞)。在一些實施例中，NY-ESO-1陽性疾病為癌症。在一些實施例中，癌症為例如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、NSCLC、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌。在一些實施例中，個體為人類。

在一些實施例中，提供一種治療個體中之NY-ESO-1陽性疾病之方法，其包含向個體投與有效量的包含抗EMC構築體之組合物，該構築體包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之抗EMC抗體部分，其中抗EMC抗體部分包含：i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 95之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 96或97之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 98之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 99之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 100之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體。在一些實施例中，抗EMC構築體為非天然存在的。在一些實施例中，抗EMC構築體為全長抗體。在一些實施例中，抗EMC構築體為多特異性(如雙特異性)分子。在一些實施例中，抗EMC構築體為嵌合抗原受體。在一些實施例中，抗EMC構築體為免疫結合物。在一些

實施例中，組合物進一步包含與抗EMC構築體相關之細胞(如效應細胞)。在一些實施例中，NY-ESO-1陽性疾病為癌症。在一些實施例中，癌症為例如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、NSCLC、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌。在一些實施例中，個體為人類。

在一些實施例中，提供治療個體中之NY-ESO-1陽性疾病之方法，其包含向個體投與有效量的包含抗EMC構築體之組合物，該構築體包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之抗EMC抗體部分，其中該抗EMC抗體部分包含：i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 95之胺基酸序列，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 96或97之胺基酸序列，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 98之胺基酸序列；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 99之胺基酸序列，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 100之胺基酸序列。在一些實施例中，抗EMC構築體為非天然存在的。在一些實施例中，抗EMC構築體為全長抗體。在一些實施例中，抗EMC構築體為多特異性(如雙特異性)分子。在一些實施例中，抗EMC構築體為嵌合抗原受體。在一些實施例中，抗EMC構築體為免疫結合物。在一些實施例中，組合物進一步包含與抗EMC構築體相關之細胞(如效應細胞)。在一些實施例中，NY-ESO-1陽性疾病為癌症。在一些實施例中，癌症為例如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、NSCLC、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌。在一些實施例中，個體為人類。

在一些實施例中，提供一種治療個體中之NY-ESO-1陽性疾病之方法，其包含向個體投與有效量的包含抗EMC構築體之組合物，該構築體包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體

的抗EMC抗體部分，其中抗EMC抗體部分包含：i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域序列，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體。在一些實施例中，抗EMC構築體為非天然存在的。在一些實施例中，抗EMC構築體為全長抗體。在一些實施例中，抗EMC構築體為多特異性(如雙特異性)分子。在一些實施例中，抗EMC構築體為嵌合抗原受體。在一些實施例中，抗EMC構築體為免疫結合物。在一些實施例中，組合物進一步包含與抗EMC構築體相關之細胞(如效應細胞)。在一些實施例中，NY-ESO-1陽性疾病為癌症。在一些實施例中，癌症為例如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、NSCLC、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌。在一些實施例中，個體為人類。

在一些實施例中，提供一種治療個體中之NY-ESO-1陽性疾病之方法，其包含向個體投與有效量的包含抗EMC構築體之組合物，該構

築體包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗EMC抗體部分，其中抗EMC抗體部分包含：i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列；或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個HC-CDR序列中之胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域序列，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列；或包含至多約5(例如約1、2、3、4或5中的任一者)個LC-CDR序列中之胺基酸取代之其變異體。在一些實施例中，抗EMC構築體為非天然存在的。在一些實施例中，抗EMC構築體為全長抗體。在一些實施例中，抗EMC構築體為多特異性(如雙特異性)分子。在一些實施例中，抗EMC構築體為嵌合抗原受體。在一些實施例中，抗EMC構築體為免疫結合物。在一些實施例中，組合物進一步包含與抗EMC構築體相關之細胞(如效應細胞)。在一些實施例中，NY-ESO-1陽性疾病為癌症。在一些實施例中，癌症為例如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、NSCLC、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌。在一些實施例中，個體為人類。

在一些實施例中，提供治療個體中之NY-ESO-1陽性疾病之方法，其包含向個體投與有效量的包含抗EMC構築體的組合物，該構築體包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗EMC抗體部分，其中抗EMC抗體部分包含：i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺

基酸序列；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列；及ii)輕鏈可變域序列，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列。在一些實施例中，抗EMC構築體為非天然存在的。在一些實施例中，抗EMC構築體為全長抗體。在一些實施例中，抗EMC構築體為多特異性(如雙特異性)分子。在一些實施例中，抗EMC構築體為嵌合抗原受體。在一些實施例中，抗EMC構築體為免疫結合物。在一些實施例中，組合物進一步包含與抗EMC構築體相關之細胞(如效應細胞)。在一些實施例中，NY-ESO-1陽性疾病為癌症。在一些實施例中，癌症為例如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、NSCLC、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌。在一些實施例中，個體為人類。

在一些實施例中，提供治療個體中之NY-ESO-1陽性疾病之方法，其包含向個體投與有效量的包含抗EMC構築體之組合物，該構築體包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之抗EMC抗體部分，其中該抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 16-34中的任一者之胺基酸序列，或具有至少約95%(例如至少約96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 36-50中的任一者之胺基酸序列，或具有至少約95%(例如至少約96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體。在一些實施例中，抗EMC構築體為非天然存在的。在一些實施例中，抗EMC構築體為全長抗體。在一些實施例中，抗EMC構築體為多特異性(如雙特異性)分子。在一些實施例中，抗

EMC構築體為嵌合抗原受體。在一些實施例中，抗EMC構築體為免疫結合物。在一些實施例中，組合物進一步包含與抗EMC構築體相關之細胞(如效應細胞)。在一些實施例中，NY-ESO-1陽性疾病為癌症。在一些實施例中，癌症為例如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、NSCLC、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌。在一些實施例中，個體為人類。

在一些實施例中，提供治療個體中之NY-ESO-1陽性疾病之方法，其包含向個體投與有效量的包含抗EMC構築體之組合物，該構築體包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之抗EMC抗體部分，其中該抗EMC抗體部分包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 16-34中的任一者之胺基酸序列，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 36-50中的任一者之胺基酸序列。在一些實施例中，抗EMC構築體為非天然存在的。在一些實施例中，抗EMC構築體為全長抗體。在一些實施例中，抗EMC構築體為多特異性(如雙特異性)分子。在一些實施例中，抗EMC構築體為嵌合抗原受體。在一些實施例中，抗EMC構築體為免疫結合物。在一些實施例中，組合物進一步包含與抗EMC構築體相關之細胞(如效應細胞)。在一些實施例中，NY-ESO-1陽性疾病為癌症。在一些實施例中，癌症為例如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、NSCLC、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌。在一些實施例中，個體為人類。

在上文所述的治療NY-ESO-1陽性疾病之方法中的任一者之一些實施例中，抗EMC構築體在向個體投與之前結合至細胞(如免疫細胞，例如T細胞)。因此，舉例而言提供一種治療個體中之NY-ESO-1陽性疾病之方法，其包含a)將本文所述之抗EMC構築體中的任一者結

合至細胞(如免疫細胞，例如T細胞)以形成抗EMC構築體/細胞結合物，及b)向個體投與有效量的包含抗EMC構築體/細胞結合物之組合物。在一些實施例中，細胞衍生自個體。在一些實施例中，細胞不衍生自個體。在一些實施例中，抗EMC構築體藉由共價鍵聯至細胞表面上之分子而結合至細胞。在一些實施例中，抗EMC構築體藉由非共價鍵聯至細胞表面上之分子而結合至細胞。在一些實施例中，抗EMC構築體藉由將一部分抗EMC構築體插入至細胞外膜中而結合至細胞。在一些實施例中，抗EMC構築體為非天然存在的。在一些實施例中，抗EMC構築體為全長抗體。在一些實施例中，抗EMC構築體為多特異性(如雙特異性)分子。在一些實施例中，抗EMC構築體為嵌合抗原受體。在一些實施例中，抗EMC構築體為免疫結合物。在一些實施例中，NY-ESO-1陽性疾病為癌症。在一些實施例中，癌症為例如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、NSCLC、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌。在一些實施例中，個體為人類。

在一些實施例中，個體為哺乳動物(例如人類、非人類靈長類動物、大鼠、小鼠、母牛、馬、豬、綿羊、山羊、狗、貓等)。在一些實施例中，個體為人類。在一些實施例中，個體為臨床患者、臨床試驗志願者、實驗動物等。在一些實施例中，個體年齡小於約60歲(包括例如年齡小於約50、40、30、25、20、15或10歲中的任一者)。在一些實施例中，個體年齡大於約60歲(包括例如年齡大於約70、80、90或100歲中的任一者)。在一些實施例中，個體診斷患有或基因上易患本文所述之疾病或病症中的一或多者(如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、NSCLC、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌)。在一些實施例中，個體具有與一或多種本文所述之疾病或病症相關之一或多種

風險因素。

在一些實施例中，本申請案提供將抗EMC構築體(如本文所述之抗EMC構築體中的任一者)傳遞至個體中之細胞之方法，該細胞在其表面上呈遞包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體，該方法包含向個體投與包含抗EMC構築體之組合物。在一些實施例中，待傳遞之抗EMC構築體與細胞(如效應細胞，例如T細胞)相關。

此項技術中已知用於NY-ESO-1陽性癌症(如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、NSCLC、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌)或展現NY-ESO-1表現之任何其他疾病的許多診斷方法及彼等疾病之臨床劃定。此類方法包括(但不限於)例如免疫組織化學、PCR及螢光原位雜交(FISH)。

在一些實施例中，本發明之抗EMC構築體及/或組合物與第二、第三或第四藥劑(包括例如抗腫瘤劑、生長抑制劑、細胞毒性劑或化學治療劑)組合投與以治療涉及NY-ESO-1表現之疾病或病症。在一些實施例中，抗EMC構築體與增加MHC I類蛋白質表現及/或藉由MHC I類蛋白質增強NY-ESO-1肽之表面呈遞之藥劑組合投與。在一些實施例中，藥劑包括例如IFN受體促效劑、Hsp90抑制劑、p53表現增強劑及化學治療劑。在一些實施例中，藥劑為IFN受體促效劑，包括例如IFN γ 、IFN β 及IFN α 。在一些實施例中，藥劑為Hsp90抑制劑，包括例如坦螺旋黴素(tanespimycin；17-AAG)、阿螺旋黴素(alvespimycin；17-DMAG)、瑞他黴素(retaspimycin；IPI-504)、IPI-493、CNF2024/BIIB021、MPC-3100、Debio 0932(CUDC-305)、PU-H71、加利特皮(Ganetespib；STA-9090)、NVP-AUY922(VER-52269)、HSP990、KW-2478、AT13387、SNX-5422、DS-2248及XL888。在一些實施例中，藥劑為p53表現增強劑，包括例如5-氟尿嘧啶及nutlin-

3。在一些實施例中，藥劑為化學治療劑，包括例如拓朴替康、依託泊苷、順鉑、太平洋紫杉醇及長春鹼。

在一些實施例中，提供治療個體中之NY-ESO-1陽性疾病之方法，其中表現NY-ESO-1之細胞通常不在其表面上呈遞，或以相對低含量呈遞包含NY-ESO-1蛋白質及MHC I類蛋白質之複合體，方法包含向個體投與包含抗EMC構築體以及增加MHC I類蛋白質之表現及/或藉由MHC I類蛋白質增強NY-ESO-1肽之表面呈遞之藥劑的組合物。在一些實施例中，藥劑包括例如IFN受體促效劑、Hsp90抑制劑、p53表現增強劑及化學治療劑。在一些實施例中，藥劑為IFN受體促效劑，包括例如IFN γ 、IFN β 及IFN α 。在一些實施例中，藥劑為Hsp90抑制劑，包括例如坦螺旋黴素(17-AAG)、阿螺旋黴素(17-DMAG)、瑞他黴素(IPI-504)、IPI-493、CNF2024/BIIB021、MPC-3100、Debio 0932(CUDC-305)、PU-H71、加利特皮(STA-9090)、NVP-AUY922(VER-52269)、HSP990、KW-2478、AT13387、SNX-5422、DS-2248及XL888。在一些實施例中，藥劑為p53表現增強劑，包括例如5-氟尿嘧啶及nutlin-3。在一些實施例中，藥劑為化學治療劑，包括例如拓朴替康、依託泊苷、順鉑、太平洋紫杉醇及長春鹼。

癌症治療可例如藉由腫瘤消退、腫瘤重量或尺寸收縮、進展時間、存活持續時間、無進展存活期、總反應率、反應持續時間、生活品質蛋白質表現及/或活性評估。可使用確定療法功效之方法，包括例如經由放射成像量測反應。

在一些實施例中，治療功效以腫瘤生長抑制百分比(TGI%)形式量測，其使用方程式 $100 - (T/C \times 100)$ 計算，其中T為經治療腫瘤之平均相對腫瘤體積，且C為未治療腫瘤之平均相對腫瘤體積。在一些實施例中，TGI%為約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、

約95%或大於95%。

投與抗EMC構築體組合物之劑量及方法

向個體(如人類)投與之抗EMC構築體組合物之劑量可隨特定組合物、投與模式及治療之疾病的類型而變化。在一些實施例中，組合物的量對於導致目標反應(如部分反應或完全反應)有效。在一些實施例中，抗EMC構築體組合物的量足以導致個體中之完全反應。在一些實施例中，抗EMC構築體組合物的量足以導致個體中之部分反應。在一些實施例中，投與之抗EMC構築體組合物的量(例如當單獨投與時)足以在用抗EMC構築體組合物治療之個體群體中產生大於約20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、64%、65%、70%、75%、80%、85%或90%中的任一者之總反應率。個體對本文所描述之方法之治療的反應可例如基於RECIST含量測定。

在一些實施例中，組合物的量足以延長個體之無進展存活期。在一些實施例中，組合物的量足以延長個體之總存活期。在一些實施例中，組合物的量(例如當單獨投與時)足以在用抗EMC構築體組合物治療之個體群體中產生大於約50%、60%、70%或77%中的任一者之臨床效益。

在一些實施例中，單獨或與第二、第三及/或第四藥劑組合之組合物的量為如下量：相比於治療之前的相同個體中之對應腫瘤尺寸、癌細胞數目或腫瘤生長速率或相比於未接受治療之其他個體中之對應活性，足以減小腫瘤尺寸、減少癌細胞數目或降低腫瘤生長速率至少約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或100%中的任一者。標準方法可用於量測此效應之量值，如藉由純化酶之活體外分析、基於細胞之分析、動物模型或人類測試。

在一些實施例中，組合物中之抗EMC構築體(例如全長抗EMC抗體、多特異性抗EMC分子、抗EMC CAR或抗EMC免疫結合物)的量低

於誘發毒理學效應(亦即臨床上可接受之毒性含量以上的效應)之含量或處於當向個體投與組合物時，可控制或容許潛在副作用之含量。

在一些實施例中，組合物的量接近遵循相同給藥方案之組合物之最大耐受劑量(MTD)。在一些實施例中，組合物的量大於MTD之約80%、90%、95%或98%中的任一者。

在一些實施例中，組合物中之抗EMC構築體(例如全長抗EMC抗體、多特異性抗EMC分子、抗EMC CAR或抗EMC免疫結合物)的量包括於約0.001 μg 至約1000 μg 之範圍內。

在以上態樣中的任一者之一些實施例中，組合物中之抗EMC構築體(例如全長抗EMC抗體、多特異性抗EMC分子、抗EMC CAR或抗EMC免疫結合物)之有效量在每公斤總體重0.1 μg 至約100 mg範圍內。

抗EMC構築體組合物可經由各種途徑向個體(如人類)投與，包括例如靜脈內、動脈內、腹膜內、肺內、經口、吸入、囊泡內、肌肉內、氣管內、皮下、眼內、鞘內、經黏膜及經皮。在一些實施例中，可使用組合物之持續連續釋放調配物。在一些實施例中，組合物經靜脈內投與。在一些實施例中，組合物經門靜脈內投與。在一些實施例中，組合物經動脈內投與。在一些實施例中，組合物經腹膜內投與。在一些實施例中，組合物經肝內投與。在一些實施例中，組合物藉由肝動脈輸注投與。

抗EMC CAR效應細胞療法

本申請案亦提供使用抗EMC CAR將效應細胞(如初生T細胞)之特異性重定向至包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的方法。因此，本發明亦提供刺激針對哺乳動物中之靶細胞群體或包含EMC呈遞細胞之組織之效應細胞介導反應(如T細胞介導之免疫反應)的方法，其包含向哺乳動物投與表現抗EMC CAR之效應細胞(如T細胞)的步驟。

表現抗EMC CAR之抗EMC CAR效應細胞(如T細胞)可輸注至有需要之接受者。輸注之細胞能夠殺死接受者中之EMC呈遞細胞。在一些實施例中，不同於抗體療法，抗EMC CAR效應細胞(如T細胞)能夠活體內複製，導致可導致持續腫瘤控制之長期持續性。

在一些實施例中，抗EMC CAR效應細胞為可經歷穩固活體內T細胞擴增且可保持延長時間量之抗EMC CAR T細胞。在一些實施例中，本發明之抗EMC CAR T細胞發展為可經再活化以抑制任何額外腫瘤形成或生長之特異性記憶T細胞。

本發明之抗EMC CAR T細胞亦可充當用於哺乳動物中之離體免疫接種及/或活體內療法之一種疫苗。在一些實施例中，哺乳動物為人類。

關於離體免疫接種，在向哺乳動物投與細胞之前，活體外進行以下中之至少一者：i)擴增細胞，ii)向細胞中引入編碼抗EMC CAR之核酸及/或iii)低溫保存細胞。

離體程序為此項技術中熟知且在下文中更完全論述。簡言之，細胞自哺乳動物(較佳人類)分離且經表現本文所揭示之抗EMC CAR之載體遺傳修飾(亦即活體外轉導或轉染)。可向哺乳動物接受者投與抗EMC CAR細胞以提供治療效益。哺乳動物接受者可為人類且抗EMC CAR細胞關於接受者可為自體的。或者，細胞關於接受者可為同種異體、同系或異種的。

用於離體擴增造血幹細胞及祖細胞之程序描述於以引用的方式併入本文中之美國專利第5,199,942號中，且可應用於本發明之細胞。其他適合方法為此項技術中已知，因此本發明不限於任何特定離體擴增細胞之方法。簡言之，T細胞之離體培養及擴展包含：(1)藉由周邊血液採集或骨髓外植體自哺乳動物收集CD34⁺造血幹細胞及祖細胞；及(2)離體擴增此類細胞。除了美國專利第5,199,942號中描述之細胞

生長因子之外，諸如flt3-L、IL-1、IL-3及c-套組配位體之其他因素可用於培養及擴增該等細胞。

除了在離體免疫接種方面使用基於細胞之疫苗之外，本發明亦提供用於活體內免疫接種以針對患者中之抗原引發免疫反應之組合物及方法。

本發明之抗EMC CAR效應細胞(如T細胞)可單獨或作為與稀釋劑及/或其他組分，如IL-2或其他細胞因子或細胞群組合之醫藥組合物投與。簡言之，本發明之醫藥組合物可包含抗EMC CAR效應細胞(如T細胞)，以及一或多種醫藥學上或生理學上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑。此類組合物可包含緩衝劑，諸如中性緩衝鹽水、磷酸鹽緩衝鹽水及其類似物；碳水化合物，諸如葡萄糖、甘露糖、蔗糖或葡聚糖、甘露糖醇；蛋白質；多肽或胺基酸，諸如甘胺酸；抗氧化劑；螯合劑，諸如EDTA或麩胱甘肽；佐劑(例如，氫氧化鋁)；及防腐劑。在一些實施例中，抗EMC CAR效應細胞(如T細胞)組合物經調配用於靜脈內投與。

待投與之本發明之抗EMC CAR效應細胞(如T細胞)組合物之精確量可由醫師考慮年齡、體重、腫瘤尺寸、感染或癌轉移程度及患者(個體)病況之個體差異而確定。在一些實施例中，包含抗EMC CAR效應細胞(如T細胞)之醫藥組合物以每公斤體重約 10^4 至約 10^9 個細胞，如每公斤體重約 10^4 至約 10^5 、約 10^5 至約 10^6 、約 10^6 至約 10^7 、約 10^7 至約 10^8 或約 10^8 至約 10^9 個細胞中的任一者(包括彼等範圍內之所有整數值)之劑量投與。抗EMC CAR效應細胞(如T細胞)組合物亦可以此等劑量投與多次。細胞可藉由使用免疫療法中通常已知之輸注技術投與(參看例如Rosenberg等人, New Eng. J. of Med. 319:1676, 1988)。特定患者之最優劑量及治療方案可由熟習醫藥技術者藉由監測患者之疾病跡象及相應調節治療而容易地確定。

在一些實施例中，可能需要向個體投與活化之抗EMC CAR T細胞，且隨後根據本發明自其再抽血(或進行清除術)、活化T細胞，且使患者再輸注此等活化及擴增之T細胞。此過程可每幾週進行多次。在一些實施例中，T細胞可自10 cc至400cc之抽血活化。在一些實施例中，T細胞自20 cc、30 cc、40 cc、50 cc、60 cc、70 cc、80 cc、90 cc或100cc之抽血活化。

抗EMC CAR效應細胞(如T細胞)之投與可以任何方便的方式進行，包括藉由霧化吸入、注射、攝入、輸注、植入或移植。可皮下、皮內、瘤內、結節內、髓內、肌肉內、靜脈內(i.v.)注射或腹膜內向患者投與本文所描述之組合物。在一些實施例中，本發明之抗EMC CAR效應細胞(如T細胞)組合物係藉由皮內或皮下注射向患者投與。在一些實施例中，本發明之抗EMC CAR效應細胞(如T細胞)組合物係藉由靜脈內注射投與。抗EMC CAR效應細胞(如T細胞)之組合物可直接注射至腫瘤、淋巴結或感染位點中。

因此，舉例而言，在一些實施例中，提供治療個體中之NY-ESO-1陽性疾病之方法，其包含向個體投與有效量的包含表現抗EMC CAR之效應細胞(如T細胞)的組合物，該抗EMC CAR包含：a)細胞外域，其包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗EMC抗體部分，b)跨膜域，及c)包含CD3ζ胞內信號傳導序列及CD28胞內信號傳導序列之胞內信號傳導域。在一些實施例中，NY-ESO-1肽為NY-ESO-1 157-165 (SEQ ID NO: 4)。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A02。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A*02:01。在一些實施例中，NY-ESO-1陽性疾病為癌症。在一些實施例中，癌症為例如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、NSCLC、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌。在一些實施例中，個體為人

類。

在一些實施例中，提供治療個體中之NY-ESO-1陽性疾病之方法，其包含向個體投與有效量的包含表現抗EMC CAR之效應細胞(如T細胞)之組合物，該抗EMC CAR包含a)細胞外域，其包含特異性結合於包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之複合體之抗EMC抗體部分，b)跨膜域，及c)包含CD3ζ胞內信號傳導序列及CD28胞內信號傳導序列之胞內信號傳導域。在一些實施例中，NY-ESO-1陽性疾病為癌症。在一些實施例中，癌症為例如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、NSCLC、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌。在一些實施例中，個體為人類。

在一些實施例中，提供一種治療個體中之NY-ESO-1陽性疾病之方法，其包含向個體投與有效量的包含表現抗EMC CAR之效應細胞(如T細胞)的組合物，該抗EMC CAR包含a)細胞外域，其包含特異性結合於包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之複合體的抗EMC抗體部分，其中抗EMC抗體部分與以下者交叉反應：i)包含具有SEQ ID NO: 7或9之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；ii)包含具有SEQ ID NO: 7、10及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；iii)包含具有SEQ ID NO: 7、9、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；iv)包含具有SEQ ID NO: 7、9、10、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；v)包含具有SEQ ID NO: 7、9、10、12、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；或vi)包含具有SEQ ID NO: 7、9、11、12、13及14中的任一

者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及HLA-A*02:01之複合體中之每一者；b)跨膜域，及c)包含CD3 ζ 胞內信號傳導序列及CD28胞內信號傳導序列之胞內信號傳導域。在一些實施例中，NY-ESO-1陽性疾病為癌症。在一些實施例中，癌症為例如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、NSCLC、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌。在一些實施例中，個體為人類。

在一些實施例中，提供一種治療個體中之NY-ESO-1陽性疾病之方法，其包含向個體投與有效量的包含表現抗EMC CAR之效應細胞(如T細胞)的組合物，該抗EMC CAR包含a)細胞外域，其包含特異性結合於包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:01之複合體的抗EMC抗體部分，其中抗EMC抗體部分與以下者交叉反應：i)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02及HLA-A*02:06中的任一者之複合體中之每一者；ii)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02、HLA-A*02:03及HLA-A*02:06中的任一者之複合體中之每一者；iii)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:05及HLA-A*02:06中的任一者之複合體中之每一者；或iv)包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:05、HLA-A*02:06及HLA-A*02:11中的任一者之複合體中之每一者；b)跨膜域，及c)包含CD3 ζ 胞內信號傳導序列及CD28胞內信號傳導序列之胞內信號傳導域。在一些實施例中，抗EMC抗體部分不結合至包含NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO: 4)及HLA-A*02:07之複合體。在一些實施例中，NY-ESO-1陽性疾病為癌症。在一些實施例中，癌症為例如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、NSCLC、卵巢癌、

前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌。在一些實施例中，個體為人類。

在一些實施例中，提供一種治療個體中之NY-ESO-1陽性疾病之方法，其包含向個體投與有效量的包含表現抗EMC CAR之效應細胞(如T細胞)的組合物，該抗EMC CAR包含a)細胞外域，其包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗EMC抗體部分，該抗體部分包含：i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 95之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 96或97之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO :98之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 99之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 100之胺基酸序列，或包含至多約3(例如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體，b)跨膜域，及c)包含CD3 ζ 胞內信號傳導序列及CD28胞內信號傳導序列之胞內信號傳導域。在一些實施例中，NY-ESO-1陽性疾病為癌症。在一些實施例中，癌症為例如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、NSCLC、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌。在一些實施例中，個體為人類。

在一些實施例中，提供治療個體中之NY-ESO-1陽性疾病之方法，其包含向個體投與有效量的包含表現抗EMC CAR之效應細胞(如T細胞)的組合物，該抗EMC CAR包含a)細胞外域，其包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗EMC抗體部分，

該抗體部分包含i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 95之胺基酸序列，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 96或97之胺基酸序列，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 98之胺基酸序列；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 99之胺基酸序列，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 100之胺基酸序列，b)跨膜域，及c)包含CD3 ζ 胞內信號傳導序列及CD28胞內信號傳導序列之胞內信號傳導域。在一些實施例中，NY-ESO-1陽性疾病為癌症。在一些實施例中，癌症為例如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、NSCLC、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌。在一些實施例中，個體為人類。

在一些實施例中，提供治療個體中之NY-ESO-1陽性疾病之方法，其包含向個體投與有效量的包含表現抗EMC CAR之效應細胞(如T細胞)的組合物，該抗EMC CAR包含a)細胞外域，其包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗EMC抗體部分，該抗體部分包含：i)重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中

的任一者)個胺基酸取代之其變異體；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，或包含至多約3(如約1、2或3中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列(且在一些實施例中由其組成)，或包含至多約5(如約1、2、3、4或5中的任一者)個胺基酸取代之其變異體；b)跨膜域，及c)包含CD3 ζ 胞內信號傳導序列及CD28胞內信號傳導序列之胞內信號傳導域。在一些實施例中，NY-ESO-1陽性疾病為癌症。在一些實施例中，癌症為例如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、NSCLC、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌。在一些實施例中，個體為人類。

在一些實施例中，提供治療個體中之NY-ESO-1陽性疾病之方法，其包含向個體投與有效量的包含表現抗EMC CAR之效應細胞(如T細胞)之組合物，該抗EMC CAR包含a)細胞外域，其包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗EMC抗體部分，該抗體部分包含i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5個HC-CDR序列中之胺基酸取代之其變異體；及ii)輕鏈可變域序列，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列；或包含至多約5個LC-CDR序列中之胺基酸取代之其變異體；b)跨膜域，及c)包含CD3 ζ 胞內信號傳導序列及CD28胞內信號傳導序列之胞內信號傳導域。在一些

實施例中，NY-ESO-1陽性疾病為癌症。在一些實施例中，癌症為例如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、NSCLC、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌。在一些實施例中，個體為人類。

在一些實施例中，提供治療個體中之NY-ESO-1陽性疾病之方法，其包含向個體投與有效量的包含表現抗EMC CAR之效應細胞(如T細胞)之組合物，該抗EMC CAR包含a)細胞外域，其包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗EMC抗體部分，該抗體部分包含i)重鏈可變域序列，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列；HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列；及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列；及ii)輕鏈可變域序列，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列；LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列；及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列；b)跨膜域，及c)包含CD3 ζ 胞內信號傳導序列及CD28胞內信號傳導序列之胞內信號傳導域。在一些實施例中，NY-ESO-1陽性疾病為癌症。在一些實施例中，癌症為例如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、NSCLC、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌。在一些實施例中，個體為人類。

在一些實施例中，提供治療個體中之NY-ESO-1陽性疾病之方法，其包含向個體投與有效量的包含表現抗EMC CAR之效應細胞(如T細胞)之組合物，該抗EMC CAR包含a)細胞外域，其包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗EMC抗體部分，該抗體部分包含i)重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 16-34中的任一者

之胺基酸序列，或具有至少約95%(例如至少約96%、97%、98%或99%中的任一者)序列一致性之其變異體，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 36-50中的任一者之胺基酸序列，或具有至少約95%序列一致性之其變異體；b)跨膜域，及c)包含CD3 ζ 胞內信號傳導序列及CD28胞內信號傳導序列之胞內信號傳導域。在一些實施例中，NY-ESO-1陽性疾病為癌症。在一些實施例中，癌症為例如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、NSCLC、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌。在一些實施例中，個體為人類。

在一些實施例中，提供治療個體中之NY-ESO-1陽性疾病之方法，其包含向個體投與有效量的包含表現抗EMC CAR之效應細胞(如T細胞)之組合物，該抗EMC CAR包含a)細胞外域，其包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的抗EMC抗體部分，該抗體部分包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 16-34中的任一者之胺基酸序列，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 36-50中的任一者之胺基酸序列；b)跨膜域，及c)包含CD3 ζ 胞內信號傳導序列及CD28胞內信號傳導序列之胞內信號傳導域。在一些實施例中，NY-ESO-1陽性疾病為癌症。在一些實施例中，癌症為例如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、NSCLC、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌。在一些實施例中，個體為人類。

癌症

在一些實施例中，抗EMC構築體及抗EMC CAR細胞可適用於治療NY-ESO-1陽性癌症。可使用本文所描述之方法中的任一者治療之癌症包括非血管化，或尚未大體上血管化之腫瘤，以及血管化腫瘤。癌症可包含非實體腫瘤(如血液腫瘤，例如白血病及淋巴瘤)或可包含

實體腫瘤。待藉由本發明之抗EMC構築體及抗EMC CAR細胞治療之癌症之類型包括(但不限於)癌瘤、母細胞瘤及肉瘤，及某些白血病或淋巴惡性腫瘤、良性及惡性腫瘤，及惡性病，例如，肉瘤、癌瘤及黑色素瘤。成人腫瘤/癌症及小兒腫瘤/癌症亦包括在內。

血液癌為血液或骨髓之癌症。血液(或血性)癌之實例包括白血病，包括急性白血病(如急性淋巴球性白血病、急性骨髓細胞性白血病、急性骨髓性白血病及骨髓母細胞性、前髓細胞性、骨髓單核細胞性、單核細胞性及紅白血病)、慢性白血病(如慢性骨髓細胞性(粒細胞性)白血病、慢性骨髓性白血病及慢性淋巴球性白血病)、真性紅血球增多症、淋巴瘤、霍奇金氏病(Hodgkin's disease)、非霍奇金氏淋巴瘤(頑固性及高級形式)、多發性骨髓瘤、瓦爾登斯特倫氏巨球蛋白血症(Waldenstrom's macroglobulinemia)、重鏈病、骨髓發育不良症候群、毛細胞白血病及骨髓發育不良。

實體腫瘤為通常不含有囊腫或液體區域之異常組織塊體。實體腫瘤可為良性或惡性的。不同類型的實體腫瘤關於形成其之細胞類型命名(如肉瘤、癌瘤及淋巴瘤)。實體腫瘤(如肉瘤及癌瘤)之實例包括纖維肉瘤、黏液肉瘤、脂肉瘤、軟骨肉瘤、骨肉瘤及其他肉瘤、滑膜瘤、間皮瘤、尤文氏腫瘤(Ewing's tumor)、平滑肌肉瘤、橫紋肌肉瘤、結腸癌瘤、淋巴惡性腫瘤、胰臟癌、乳癌、肺癌、卵巢癌、前列腺癌、肝細胞癌、鱗狀細胞癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、甲狀腺髓樣癌、乳頭狀甲狀腺癌、嗜鉻細胞瘤皮脂腺癌、乳頭狀癌、乳頭狀腺癌、髓性癌、支氣管癌、腎細胞癌、肝癌、膽管癌、絨膜癌、威耳姆士腫瘤(Wilms'tumor)、子宮頸癌(例如子宮頸癌及侵襲前子宮頸發育不良)、肛門癌、肛管癌或肛腸癌、陰道癌、外陰癌(例如鱗狀細胞癌、上皮內癌、腺癌及纖維肉瘤)、陰莖癌、口咽癌症、頭癌(例如鱗狀細胞癌)、頸癌(例如鱗狀細胞癌)、睪丸癌(例如精原細胞瘤、畸胎

之個體中之位點處濃縮(及用於清除非結合標記抗EMC抗體部分)。在一些實施例中，方法進一步包含減去標記之背景含量。背景含量可藉由各種方法測定，包括例如在投與標記抗EMC抗體部分之前偵測個體中之標記，或藉由根據上文所述之診斷方法偵測不患有疾病或病症之個體中之標記。在一些實施例中，疾病或病症為癌症。在一些實施例中，癌症選自例如由以下組成之群：膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、NSCLC、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤及甲狀腺癌。在一些實施例中，癌症為轉移性癌症。在一些實施例中，癌症為轉移性癌症，且方法進一步包含測定個體血液中之標記含量。在一些實施例中，個體為人類。

在一些實施例中，提供診斷個體(例如哺乳動物，如人類)中之NY-ESO-1陽性癌症的方法，其包含(a)向個體投與有效量的根據上文所述之實施例中之任一者之標記抗EMC抗體部分；及(b)測定個體中之標記含量，使得高於臨限值含量之標記的含量指示個體患有轉移性癌症。臨限值含量可藉由各種方法測定，包括例如藉由根據上文所述之診斷方法在患有轉移性癌症之第一組個體及不患有轉移性癌症之第二組個體中偵測標記，及將臨限值設定至允許在第一與第二組之間加以區分之含量。在一些實施例中，臨限值含量為零，且方法包含測定個體血液中之標記之存在或不存在。在一些實施例中，方法進一步包含在投與步驟(a)之後等待一定時間間隔以准許經標記抗EMC抗體部分優先在表現EMC之個體中之位點處濃縮(及用於清除非結合標記抗EMC抗體部分)。在一些實施例中，方法進一步包含減去標記之背景含量。背景含量可藉由各種方法測定，包括例如在投與標記抗EMC抗體部分之前偵測個體中之標記，或藉由根據上文所述之診斷方法偵測不患有轉移性癌症之個體中之標記。在一些實施例中，個體為人類。

在一些實施例中，提供診斷與個體(例如哺乳動物如人類)中NY-ESO-1之表現或異常表現相關之疾病或病症之方法，其包含(a)使根據上文所述之實施例中之任一者之標記抗EMC抗體部分與衍生自個體之樣品(如全血或均質化組織)接觸；及(b)測定樣品中與標記抗EMC抗體部分結合之細胞數量，使得與標記抗EMC抗體部分結合之細胞數量值高於臨限值含量指示個體患有疾病或病症。臨限值含量可藉由各種方法測定，包括例如藉由根據上文所述之診斷方法在患有疾病或病症之第一組個體及不患有疾病或病症之第二組個體中測定與標記抗EMC抗體部分結合之細胞數量，及將臨限值設定至允許在第一與第二組之間加以區分之含量。在一些實施例中，臨限值含量為零，且方法包含測定樣品中與標記抗EMC抗體部分結合之細胞之存在或不存在。在一些實施例中，方法進一步包含減去與標記抗EMC抗體部分結合之細胞數量的背景含量。背景含量可藉由各種方法測定，包括例如在投與標記抗EMC抗體部分之前測定個體中與標記抗EMC抗體部分結合之細胞數量，或藉由根據上文所述之診斷方法在不患有疾病或病症之個體中測定與標記抗EMC抗體部分結合之細胞數量。在一些實施例中，疾病或病症為癌症。在一些實施例中，癌症選自例如由以下組成之群：膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、NSCLC、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤及甲狀腺癌。在一些實施例中，癌症為轉移性癌症。在一些實施例中，癌症為轉移性癌症，且樣品為血液樣品(如全血)。在一些實施例中，個體為人類。

在一些實施例中，提供診斷個體(例如哺乳動物，如人類)中之轉移性NY-ESO-1陽性癌症之方法，其包含(a)使根據上文所述之實施例中之任一者之標記抗EMC抗體部分與衍生自個體之樣品(如全血)接觸；及(b)測定樣品中與標記抗EMC抗體部分結合之細胞數量，使得

於標記抗EMC抗體部分結合之細胞數量值之臨限值含量指示個體患有轉移性癌症。臨限值含量可藉由各種方法測定，包括例如藉由根據上文所述之診斷方法在患有轉移性癌症之第一組個體及不患有轉移性癌症之第二組個體中測定與標記抗EMC抗體部分結合之細胞數量，及將臨限值設定至允許在第一與第二組之間加以區分之含量。在一些實施例中，臨限值含量為零，且方法包含測定樣品中與標記抗EMC抗體部分結合之細胞之存在或不存在。在一些實施例中，方法進一步包含減去與標記抗EMC抗體部分結合之細胞數量的背景含量。背景含量可藉由各種方法測定，包括例如在投與標記抗EMC抗體部分之前測定個體中與標記抗EMC抗體部分結合之細胞數量，或藉由根據上文所述之診斷方法在不患有轉移性癌症之個體中測定與標記抗EMC抗體部分結合之細胞數量。在一些實施例中，樣品為血液(如全血)。在一些實施例中，個體為人類。

本發明之抗EMC抗體部分可用於使用熟習此項技術者已知之方法分析生物樣品中之EMC呈遞細胞之含量。適合抗體標記為此項技術中已知且包括酶標記，如葡萄糖氧化酶；放射性同位素，如碘(^{131}I 、 ^{125}I 、 ^{123}I 、 ^{121}I)、碳(^{14}C)、硫(^{35}S)、氫(^3H)、銦($^{115\text{m}}\text{In}$ 、 $^{113\text{m}}\text{In}$ 、 ^{112}In 、 ^{111}In)、鎝(^{99}Tc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$)、鈦(^{201}Ti)、鎳(^{68}Ga 、 ^{67}Ga)、鈮(^{103}Pd)、鉬(^{99}Mo)、氙(^{133}Xe)、氟(^{18}F)、釷(^{153}Sm)、鐳(^{177}Lu)、釷(^{159}Gd)、鉕(^{149}Pm)、鐳(^{140}La)、鐳(^{175}Yb)、釷(^{166}Ho)、釷(^{90}Y)、釷(^{47}Sc)、釷(^{186}Re 、 ^{188}Re)、釷(^{142}Pr)、釷(^{105}Rh)及釷(^{97}Ru)；魯米諾(luminol)；螢光標記，如螢光素及若丹明；及生物素。

此項技術中已知之技術可應用於本發明之標記抗EMC抗體部分。此類技術包括(但不限於)使用雙官能結合劑(參見例如美國專利第5,756,065號；第5,714,631號；第5,696,239號；第5,652,361號；第5,505,931號；第5,489,425號；第5,435,990號；第5,428,139號；第

5,342,604號；第5,274,119號；第4,994,560號；及第5,808,003號)。除上述分析以外，熟習此項技術者可使用各種活體內及離體分析。舉例而言，可將個體身體內之細胞暴露至視情況經可偵測標記，例如放射性同位素標記之抗EMC抗體部分，且可例如藉由外部放射性掃描或藉由分析衍生自先前暴露於抗EMC抗體部分之個體的樣品(例如生檢或其他生物樣品)評估抗EMC抗體部分與細胞之結合。

製品及套組

在本發明的一些實施例中，提供含有適用於治療NY-ESO-1陽性疾病，如癌症(例如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、NSCLC、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌)之材料的製品，其用於將抗EMC構築體傳遞至在表面上呈遞EMC之細胞，或用於分離或偵測個體製造EMC呈遞細胞。該製品可包含容器及容器上或容器隨附之標籤或藥品說明書。適合的容器包括例如瓶子、小瓶、注射器等。容器可由各種材料形成，諸如玻璃或塑膠。一般來說，容器容納對於治療本文所述之疾病或病症有效之組合物，且可具有無菌出入端口(例如容器可為靜脈內溶液袋或具有可藉由皮下注射針刺穿之塞子的小瓶)。組合物中之至少一種活性劑為本發明之抗EMC構築體。標籤或藥品說明書指示該組合物用於治療特定病況。標籤或藥品說明書將另外包含向患者投與抗EMC構築體組合物之說明書。亦涵蓋包含本文中描述之組合療法的製品及套組。

藥品說明書係指市售治療產品封裝中通常所包括之含有關於適應症、使用、劑量、投與、與此類治療產品之使用有關之禁忌之資訊及/或警告的說明書。在一些實施例中，藥品說明書指示組合物用於治療NY-ESO-1陽性癌症(如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、NSCLC、

卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌)。

另外，製品可進一步包含第二容器，其包含醫藥學上可接受之緩衝液，諸如抑菌性注射用水(BWFI)、磷酸鹽緩衝鹽水、林格氏溶液(Ringer's solution)及右旋糖溶液。其可進一步包括就商業及使用者觀點而言所需之其他物質，包括其他緩衝液、稀釋劑、過濾器、針及注射器。

亦提供適用於各種目的之套組，例如用於治療本文所述之NY-ESO-1陽性疾病或病症、將抗EMC構築體傳遞至在表面上呈遞EMC之細胞，或分離或偵測個體中之EMC呈遞細胞，視情況與製品組合。本發明之套組包括一或多個容器，其包含抗EMC構築體組合物(或單位劑型及/或製品)，且在一些實施例中，另外包含根據本文所描述之方法中的任一者之另一藥劑(如本文所述之藥劑)及/或使用說明書。套組可進一步包含選擇適合於治療之個體的說明。本發明套組中供應之說明書為通常在標記或藥品說明書(例如，套組中包括之紙片)上之書面說明書，但機器可讀說明書(例如，磁化或光學儲存盤上載有的說明書)亦為可接受的。

舉例而言，在一些實施例中，套組包含含抗EMC構築體(例如全長抗EMC抗體、多特異性抗EMC分子(如雙特異性抗EMC抗體)或抗EMC免疫結合物)之組合物。在一些實施例中，套組包含a)包含抗EMC構築體之組合物，及b)有效量的至少一種其他藥劑，其中其他藥劑增加MHC I類蛋白質之表現及/或增強NY-ESO-1肽藉由MHC I類蛋白質(例如IFN γ 、IFN β 、IFN α 或Hsp90抑制劑)之表面呈遞。在一些實施例中，套組包含a)包含抗EMC構築體之組合物，及b)向個體投與抗EMC構築體組合物以治療NY-ESO-1陽性疾病之說明書，該疾病包括例如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、非小細胞肺癌(NSCLC)、卵巢癌、

前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌。在一些實施例中，套組包含a)包含抗EMC構築體之組合物，b)有效量的至少一種其他藥劑，其中其他藥劑增加MHC I類蛋白質之表現及/或增強NY-ESO-1肽藉由MHC I類蛋白質(例如IFN γ 、IFN β 、IFN α 或Hsp90抑制劑)之表面呈遞，及c)向個體投與抗EMC構築體組合物以治療NY-ESO-1陽性疾病之說明書，該疾病包括例如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、非小細胞肺癌(NSCLC)、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌。抗EMC構築體及其他藥劑可存在於獨立容器或單一容器中。舉例而言，套組可包含一種相異的組合物或兩種或大於兩種組合物，其中一種組合物包含抗EMC構築體且另一組合物包含另一藥劑。

在一些實施例中，套組包含a)包含抗EMC構築體(例如全長抗EMC抗體、多特異性抗EMC分子(如雙特異性抗EMC抗體)或抗EMC免疫結合物)之組合物，及b)說明書，其關於組合抗EMC構築體與細胞(如來源於個體之細胞，例如免疫細胞)以形成包含抗EMC構築體/細胞結合物之組合物及向個體投與抗EMC構築體/細胞結合物組合物以治療NY-ESO-1陽性疾病(包括例如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、非小細胞肺癌(NSCLC)、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌)。在一些實施例中，套組包含a)包含抗EMC構築體之組合物，及b)細胞(如細胞毒性細胞)。在一些實施例中，套組包含a)包含抗EMC構築體之組合物，b)細胞(如細胞毒性細胞)，及c)說明書，其關於組合抗EMC構築體與細胞(如來源於個體之細胞，例如免疫細胞)以形成包含抗EMC構築體/細胞結合物之組合物及向個體投與抗EMC構築體/細胞結合物組合物以治療NY-ESO-1陽性疾病，包括例如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞

瘤、非小細胞肺癌(NSCLC)、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌。在一些實施例中，套組包含含與細胞(如細胞毒性細胞)結合之抗EMC構築體之組合物。在一些實施例中，套組包含a)包含與細胞(如細胞毒性細胞)結合之抗EMC構築體之組合物，及b)說明書，其關於組合抗EMC構築體與細胞(如來源於個體之細胞，例如免疫細胞)以形成包含抗EMC構築體/細胞結合物之組合物及向個體投與抗EMC構築體/細胞結合物組合物以治療NY-ESO-1陽性疾病，包括例如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、非小細胞肺癌(NSCLC)、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌。在一些實施例中，結合係藉由抗EMC構築體結合至細胞表面上之分子。在一些實施例中，結合係藉由將抗EMC構築體的一部分插入至細胞外膜中。

在一些實施例中，套組包含編碼抗EMC構築體(例如全長抗EMC抗體、多特異性抗EMC分子(如雙特異性抗EMC抗體)、抗EMC CAR或抗EMC免疫結合物)或其多肽部分之核酸(或核酸集合)。在一些實施例中，套組包含a)編碼抗EMC構築體或其多肽部分之核酸(或核酸集合)，及b)表現核酸(或核酸集合)之宿主細胞(如效應細胞)。在一些實施例中，套組包含a)編碼抗EMC構築體或其多肽部分之核酸(或核酸集合)，及b)說明書，其關於i)表現宿主細胞(如效應細胞，例如T細胞)中之抗EMC構築體，ii)製備包含抗EMC構築體或表現抗EMC構築體之宿主細胞的組合物，及iii)向個體投與包含抗EMC構築體或表現抗EMC構築體之宿主細胞之組合物以治療NY-ESO-1陽性疾病，包括例如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、非小細胞肺癌(NSCLC)、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌。在一些實施例中，宿主細胞衍生自個體。在一些實施例中，套組包含a)編碼抗EMC構築體或其多肽部分之

核酸(或核酸集合)，b)表現核酸(或核酸集合)之宿主細胞(如效應細胞)，及c)說明書，其關於i)表現宿主細胞(如效應細胞，例如T細胞)中之抗EMC構築體，ii)製備包含抗EMC構築體或表現抗EMC構築體之宿主細胞的組合物，及iii)向個體投與包含抗EMC構築體或表現抗EMC構築體之宿主細胞之組合物以治療NY-ESO-1陽性疾病，包括例如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、非小細胞肺癌(NSCLC)、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌。

在一些實施例中，套組包含編碼抗EMC CAR之核酸。在一些實施例中，套組包含含編碼抗EMC CAR之核酸的載體。在一些實施例中，套組包含a)包含編碼抗EMC CAR之核酸的載體，及b)說明書，其關於i)將載體引入至來源於個體之效應細胞(如T細胞)中，ii)製備包含抗EMC CAR效應細胞的組合物，及iii)向個體投與抗EMC CAR效應細胞組合物以治療NY-ESO-1陽性疾病，包括例如膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、非小細胞肺癌(NSCLC)、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌。

本發明之套組係在適合的包裝中。適合的包裝包括(但不限於)小瓶、瓶子、罐、可撓性包裝(例如密封Mylar或塑膠袋)及其類似物。套組可視情況提供諸如緩衝劑之額外組分及說明性資訊。本申請案因此亦提供製品，其包括小瓶(諸如密封小瓶)、瓶子、罐、可撓性包裝及其類似者。

與抗EMC構築體組合物之使用相關的說明書大體上包括關於所期望治療之劑量、給藥時程及投與途徑之資訊。容器可為單位劑量、散裝(例如多劑量包裝)或次單位劑量。舉例而言，可提供套組，其含有足夠劑量如本文中所揭示之抗EMC構築體(例如全長抗EMC抗體、

多特異性抗EMC分子(如雙特異性抗EMC抗體)、抗EMC CAR或抗EMC免疫結合物)以持續延長時段，如一週、8天、9天、10天、11天、12天、13天、2週、3週、4週、6週、8週、3個月、4個月、5個月、7個月、8個月、9個月或大於9個月中的任一者提供個體之有效治療。套組亦可包括多個單位劑量之抗EMC構築體及醫藥組合物及使用說明書且以對於在藥房，例如醫院藥房及配藥房中儲存及使用而言足夠之量包裝。

熟習此項技術者將認識到，在本發明之範疇及精神內，若干實施例為可能的。現將參照下列非限制性實例來更詳細地描述本發明。以下實施例進一步說明本發明，但當然不應解釋為以任何方式限制其範疇。

例示性實施例

實施例1.在一些實施例中，提供經分離抗EMC構築體，其包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及主要組織相容性(MHC) I類蛋白質之複合體(NY-ESO-1/MHC I類複合體，或EMC)的抗體部分。

實施例2.在實施例1之一些其他實施例中，NY-ESO-1/MHC I類複合體存在於細胞表面上。

實施例3.在實施例1之一些其他實施例中，NY-ESO-1/MHC I類複合體存在於癌細胞表面上。

實施例4.在實施例1至3中任一項之一些其他實施例中，MHC I類蛋白質為人類白血球抗原(HLA)-A。

實施例5.在實施例4之一些其他實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A02。

實施例6.在實施例5之一些其他實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A02對偶基因之HLA-A*02:01亞型。

實施例7.在實施例1至6中任一項之一些其他實施例中，抗體部分

與包含NY-ESO-1肽及具有與MHC I類蛋白質不同的HLA對偶基因之第二MHC I類蛋白質之複合體交叉反應。

實施例8.在實施例1至7中任一項之一些其他實施例中，NY-ESO-1肽長度為8至12個胺基酸。

實施例9.在實施例1至8中任一項之一些其他實施例中，NY-ESO-1肽來源於人類NY-ESO-1蛋白質。

實施例10.在實施例1至9中任一項之一些其他實施例中，NY-ESO-1肽具有選自由SEQ ID NO: 3-14組成之群的胺基酸序列。

實施例11.在實施例10之一些其他實施例中，NY-ESO-1肽具有SLLMWITQC (SEQ ID NO: 4)之胺基酸序列。

實施例12.在實施例11之一些其他實施例中，抗體部分與以下者交叉反應：

a)包含具有SEQ ID NO: 7或9之胺基酸序列的NY-ESO-1肽之變異體及MHC I類蛋白質之複合體中之每一者；

b)包含具有SEQ ID NO: 7、10及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及MHC I類蛋白質之複合體中之每一者；

c)包含具有SEQ ID NO: 7、9、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及MHC I類蛋白質之複合體中之每一者；

d)包含具有SEQ ID NO: 7、9、10、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及MHC I類蛋白質之複合體中之每一者；

e)包含具有SEQ ID NO: 7、9、10、12、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及MHC I類蛋白質之複合體中之每一者；或

f)包含具有SEQ ID NO: 7、9、11、12、13及14中的任一者之胺基酸序列之NY-ESO-1肽之變異體及MHC I類蛋白質之複合體中之每

一者。

實施例13.在實施例11之一些其他實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A*02:01且抗體部分與以下者交叉反應：

a)包含NY-ESO-1肽及HLA-A*02:02及HLA-A*02:06中的任一者之複合體中之每一者；

b)包含NY-ESO-1肽及HLA-A*02:02、HLA-A*02:03及HLA-A*02:06中的任一者之複合體中之每一者；

c)包含NY-ESO-1肽及HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:05及HLA-A*02:06中的任一者之複合體中之每一者；或

d)包含NY-ESO-1肽及HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:05、HLA-A*02:06及HLA-A*02:11中的任一者之複合體中之每一者。

實施例14.在實施例1至13中任一項之一些其他實施例中，抗體部分為人類、人類化或半合成的。

實施例15.在實施例1至14中任一項之一些其他實施例中，抗體部分為全長抗體、Fab、Fab'、(Fab')₂、Fv或單鏈Fv(scFv)。

實施例16.在實施例1至15中任一項之一些其他實施例中，抗體部分以約0.1 pM至約500 nM之平衡解離常數(K_d)結合至NY-ESO-1/MHC I類複合體。

實施例17.在實施例1至16中任一項之一些其他實施例中，經分離抗EMC構築體以約0.1 pM至約500 nM之K_d結合至NY-ESO-1/MHC I類複合體。

實施例18.在實施例1至17中任一項之一些其他實施例中，抗體部分包含：

i)重鏈可變域，其包含重鏈互補決定區(HC-CDR) 1，包含胺基酸序列G-G/Y-T-F-S/T-S-Y-A/G (SEQ ID NO: 95)，或包含至多約3個胺基

酸取代之其變異體，HC-CDR2，該HC-CDR2包含胺基酸序列I-I-P-I-F/L-G-T-A或I-S-A-X-X-G-X-T (SEQ ID NO: 96或97)，或包含至多約3個胺基酸取代之其變異體，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含胺基酸序列A-R-Y-X-X-Y (SEQ ID NO: 98)，或包含至多約3個胺基酸取代之其變異體；及

ii)輕鏈可變域，其包含輕鏈互補決定區(LC-CDR) 1，包含胺基酸序列S-S-N-I-G-A/N-G/N-Y (SEQ ID NO: 99)，或包含至多約3個胺基酸取代之其變異體，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含胺基酸序列G/Q-S/T-W/Y-D-S/T-S-L-S/T-A/G-W/Y-V (SEQ ID NO: 100)，或包含至多約3個胺基酸取代之其變異體，其中X可為任何胺基酸。

實施例19.在實施例1至17中任一項之一些其他實施例中，抗體部分包含：

i)重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5個胺基酸取代之其變異體，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5個胺基酸取代之其變異體，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5個胺基酸取代之其變異體；及

ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5個胺基酸取代之其變異體，LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約3個胺基酸取代之其變異體，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5個胺基酸取代之其變異體。

實施例20.在實施例1至17中任一項之一些其他實施例中，抗體部分包含：

i)重鏈(HC)可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列；或包含至多約5個HC-CDR區中之胺基酸取代之其變異體；及

ii)輕鏈(LC)可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列，LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列；或包含至多約5個LC-CDR區中之胺基酸取代之其變異體。

實施例21.在實施例19或20之一些其他實施例中，抗體部分包含a)重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 16-34中的任一者之胺基酸序列，或與SEQ ID NO: 16-34中的任一者具有至少約95%序列一致性之其變異體；及b)輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 36-50中的任一者之胺基酸序列，或與SEQ ID NO: 36-50中的任一者具有至少約95%序列一致性之其變異體。

實施例22.在實施例21之一些其他實施例中，抗體部分包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 16-34中的任一者之胺基酸序列，及輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 36-50中的任一者之胺基酸序列。

實施例23.在實施例1至22中任一項之一些其他實施例中，經分離抗EMC構築體為全長抗體。

實施例24.在實施例1至23中任一項之一些其他實施例中，經分離抗EMC構築體為單特異性的。

實施例25.在實施例1至23中任一項之一些其他實施例中，經分離抗EMC構築體為多特異性的。

實施例26.在實施例25之一些其他實施例中，經分離抗EMC構築

體為雙特異性的。

實施例27.在實施例25或26之一些其他實施例中，經分離抗EMC構築體為串聯scFv、雙功能抗體(Db)、單鏈雙功能抗體(scDb)、雙親和力再靶向(DART)抗體、雙可變域(DVD)抗體、杵-臼(KiH)抗體、塙鎖(DNL)抗體、化學交聯抗體、雜多聚體抗體或異結合物抗體。

實施例28.在實施例27之一些其他實施例中，經分離抗EMC構築體為包含兩個藉由肽連接子連接之scFv之串聯scFv。

實施例29.在實施例28之一些其他實施例中，肽連接子包含胺基酸序列GGGGS。

實施例30.在實施例25至29中任一項之一些其他實施例中，經分離抗EMC構築體進一步包含特異性結合於第二抗原之第二抗體部分。

實施例31.在實施例30之一些其他實施例中，第二抗原為T細胞表面上之抗原。

實施例32.在實施例31之一些其他實施例中，第二抗原選自由以下組成之群：CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD28、OX40、GITR、CD137、CD27、CD40L及HVEM。

實施例33.在實施例31之一些其他實施例中，第二抗原為CD3 ϵ ，且其中經分離抗EMC構築體為包含對NY-ESO-1/MHC I類複合體具有特異性之N端scFv及對CD3 ϵ 具有特異性之C端scFv之串聯scFv。

實施例34.在實施例31之一些其他實施例中，T細胞選自由以下組成之群：細胞毒性T細胞、輔助T細胞及自然殺手T細胞。

實施例35.在實施例30之一些其他實施例中，第二抗原為自然殺手細胞、中性粒細胞、單核細胞、巨噬細胞或樹突狀細胞表面上之抗原。

實施例36.在實施例1至22中任一項之一些其他實施例中，經分離抗EMC構築體為嵌合抗原受體。

實施例37.在實施例36之一些其他實施例中，嵌合抗原受體包含含抗體部分之細胞外域、跨膜域及包含CD3 ζ 胞內信號傳導序列及CD28胞內信號傳導序列之胞內信號傳導域。

實施例38.在實施例1至22中任一項之一些其他實施例中，經分離抗EMC構築體為包含抗體部分及效應分子之免疫結合物。

實施例39.在實施例38之一些其他實施例中，效應分子為選自由以下組成之群的治療劑：藥物、毒素、放射性同位素、蛋白質、肽及核酸。

實施例40.在實施例39之一些其他實施例中，治療劑為藥物或毒素。

實施例41.在實施例38之一些其他實施例中，效應分子為標記。

實施例42.在一些實施例中，提供包含實施例1至40中任一項之經分離抗EMC構築體之醫藥組合物。

實施例43.在一些實施例中，提供表現實施例1至41中任一項之經分離抗EMC構築體之宿主細胞。

實施例44.在一些實施例中，提供編碼實施例1至41中任一項之經分離抗EMC構築體之多肽組分之核酸。

實施例45.在一些實施例中，提供包含實施例44之核酸之載體。

實施例46.在一些實施例中，提供表現實施例36或37之經分離抗EMC構築體之效應細胞。

實施例47.在實施例46之一些其他實施例中，效應細胞為T細胞。

實施例48.在一些實施例中，提供偵測在表面上呈遞包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體之細胞的方法，其包含使細胞與實施例41之經分離抗EMC構築體接觸及偵測細胞上之標記之存在。

實施例49.在一些實施例中，提供治療患有NY-ESO-1陽性疾病之個體之方法，其包含向個體投與有效量的實施例42之醫藥組合物。

實施例50.在一些實施例中，提供治療患有NY-ESO-1陽性疾病之個體的方法，其包含向個體投與有效量的實施例46或47之效應細胞。

實施例51.在一些實施例中，提供診斷患有NY-ESO-1陽性疾病之個體之方法，其包含：

a)向個體投與有效量的實施例39之經分離抗EMC構築體；及

b)測定該個體中之該標記之含量，其中該標記之含量高於臨限值含量指示該個體患有該NY-ESO-1陽性疾病。

實施例52.在一些實施例中，提供診斷患有NY-ESO-1陽性疾病之個體之方法，其包含：

a)使來源於個體之樣品與實施例39之經分離抗EMC構築體接觸；

及

b)測定該樣品中與該經分離抗EMC構築體結合之細胞之數量，其中與該經分離抗EMC構築體結合之細胞之數量值高於臨限值含量指示該個體患有該NY-ESO-1陽性疾病。

實施例53.在實施例49至52中任一項之一些其他實施例中，NY-ESO-1陽性疾病為NY-ESO-1陽性癌症。

54. 在實施例53之一些其他實施例中，NY-ESO-1陽性癌症為膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、非小細胞肺癌(NSCLC)、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌。

實例

材料

細胞樣品、細胞株及抗體

細胞株包括：IM9 (ATCC CCL-159；HLA-A2⁺，NY-ESO-1⁺)、U266 (ATCC TIB-196；HLA-A2⁺，NY-ESO-1⁺)、Colo205 (ATCC CCL-222；HLA-A2⁺，NY-ESO-1⁻)及淋巴母細胞細胞株T2 (ATCC CRL-

1992; HLA-A2⁺, NY-ESO-1⁻)。T2為TAP缺陷細胞株。細胞株在補充有5% FCS、青黴素、鏈黴素、2 mmol/L麩醯胺酸及2-巰基乙醇之RPMI 1640中在37°C/5% CO₂下培養。

所有肽為Genemed Synthesis, Inc. (San Antonio, Tex.)購買及合成的。肽純度>90%。肽溶解於DMSO中且在5 mg/mL下之生理鹽水中稀釋且在-180C下冷凍。生物素標記之單鏈NY-ESO-1肽/HLA-A*02:01及對照肽/HLA-A*02:01複合物藉由經重組HLA-A02及β-2微球蛋白(β2M)(約2 M)再摺疊肽而合成。結合HLA-A*02:01之19種對照肽(p19, SEQ ID NO: 123-133、135-139、141、143及145)來源於以下15種基因: BCR、BTG2、CALR、CD247、CSF2RA、CTSG、DDX5、DMTN、HLA-E、IFI30、IL7、PIM1、PPP2R1B、RPS6KB1、SSR1。100p HLA-A*02:01限制對照肽混合物含有來源於癌症抗原、自體免疫疾病抗原、病毒抗原及表現於正常細胞中之蛋白質之101種肽。

實例1.產生生物素標記NY-ESO-1/HLA-A*02:01複合體單體

生物素標記之NY-ESO-1 157-165野生型及C9V突變肽/HLA-A*02:01複合體單體係根據標準方案(John D. Altman及Mark M. Davis, *Current Protocols in Immunology* 17.3.1-17.3.33, 2003)製備。簡言之, 編碼全長人類β-2微球蛋白(β2m)之DNA由Genewiz合成且選殖至載體PET-27b中。BirA受質肽(BSP)添加至HLA-A*02:01細胞外域(ECD)之C端。編碼HLA-A*02:01 ECD-BSP之DNA亦由Genewiz合成且選殖至載體pET-27b中。表現人類β2m及HLA-A*02:01 ECD-BSP之載體分別轉型至大腸桿菌BL21細胞中, 且經表現蛋白質以來自細菌培養之包涵體形式分離。肽配體NY-ESO-1 157-165野生型或C9V突變體藉由人類β2m及HLA-A*02:01 ECD-BSP再摺疊以形成NY-ESO-1肽/HLA-A*02:01複合體單體。摺疊肽/HLA-A*02:01單體藉由超過濾濃縮且經由尺寸排外層析法進一步純化。HiPrep 26/60 Sephacryl S-300 HR藉由

1.5管柱體積之海克隆(Hyclone)杜爾貝科氏磷酸鹽緩衝鹽水溶液(Thermo Scientific, 目錄號SH3002802)平衡。未純化樣品經裝載且用1管柱體積溶離。對應於錯誤摺疊聚集體之第一峰在大致111 mL處溶離, 對應於恰當摺疊MHC複合體之峰觀測於212 mL處, 且對應於游離 β 2M之峰觀測於267 mL處(圖1)。1). 肽/HLA-A*02:01單體經由BirA介導之酶反應生物素標記且隨後藉由高解析度陰離子交換層析純化。生物素標記肽/HLA-A*02:01單體在-80°C下儲存於PBS中。

可進行純化NY-ESO-1肽/MHC複合體之SDS-PAGE以測定蛋白質純度。舉例而言, 1 μ g蛋白質複合體與2.5 μ L NuPAGE LDS樣品緩衝液(Life Technologies, NP0008)混合且藉由去離子水使其總計達10 μ L。樣品在70°C下加熱10分鐘, 接著負載至凝膠上。在180V下進行凝膠電泳1小時。

實例2.選擇及表徵對NY-ESO-1/HLA-A*02:01複合體具有特異性之scFv.

由Eureka Therapeutics構築之一批人類scFv抗體噬菌體呈現文庫(多樣性= 10×10^{10})用於選擇特異於NY-ESO-1/HLA-A*02:01之人類mAb。15個全人類噬菌體scFv文庫用於相對於NY-ESO-1/HLA-A*02:01複合體水平移動。為了減少藉由將蛋白質複合體固定至塑膠表面上引入之MHC1複合體之構形變化, 使用溶液水平移動及細胞水平移動替代習知板水平移動。在溶液水平移動中, 生物素標記抗原在藉由PBS緩衝液之延長洗滌之後首先與人類scFv噬菌體文庫混合, 且接著, 抗原-scFv抗體噬菌體複合體藉由抗生蛋白鏈菌素結合之戴諾珠粒M-280經由磁道拉下。結合之純系接著經溶離且用於感染大腸桿菌XL1-Blue細胞。在細胞水平移動中, 負載有NY-ESO-1肽之T2細胞首先與人類scFv噬菌體文庫混合。T2細胞為TAP缺陷、HLA-A*02:01⁺淋巴母細胞細胞株。為了負載肽, T2細胞經20 μ g/ml β 2M存在下之含

肽(50 $\mu\text{g/ml}$)之無血清RPMI1640培養基脈衝隔夜。在藉由PBS之延長洗滌之後，具有結合scFv抗體噬菌體之肽負載之T2細胞經快速離心。結合之純系接著經溶離且用於感染大腸桿菌XL1-Blue細胞。表現於細菌中之噬菌體純系接著經純化。藉由溶液水平移動、細胞水平移動或溶液及細胞水平移動之組合進行水平移動3-4回合以富集特異性結合NY-ESO-1/HLA-A*02:01之scFv噬菌體純系。

野生型 NY-ESO1 157-165 (ESO157) 肽 SLLMWITQC 對 HLA-A*02:01具有相對較低結合親和力。ESO157肽之C端錨定位置(位置9)處之半胱胺酸殘基可誘導非所需ESO157/HLA-A*02:01複合體二聚化。位置9處之纈胺酸取代(C9V突變體)增加ESO157肽與HLA-A*02:01之結合親和力且消除複合體二聚化。針對ESO157野生型肽/HLA-A*02:01及ESO157 C9V突變肽/HLA-A*02:01複合體進行噬菌體水平移動及篩選(Chen JL等人, *J. Immunol.* 165(2):948-55, 2000)。

抗生蛋白鏈菌素ELISA盤塗佈有生物素標記ESO157 C9V/HLA-A*02:01複合體單體(Bio-C9V突變體)或生物素標記對照肽混合物100p/HLA-A*02:01單體(Bio-100p)。相對於ESO157/HLA-A*02:01複合體之來自富集噬菌體呈現水平移動池之各別噬菌體純系在塗佈盤中培育。噬菌體純系之結合藉由HRP結合之抗M13抗體偵測且使用HRP受質顯影。吸收率在450 nm處讀取。893個陽性純系經由4760個自噬菌體水平移動富集之噬菌體純系之ELISA篩選鑑別。圖2提供在ELISA分析中結合至生物素標記ESO157/HLA-A*02:01單體之噬菌體純系之實例。160個獨特純系藉由893個ELISA陽性噬菌體純系之DNA測序鑑別。陽性純系藉由針對生物素標記NY-ESO-1/HLA-A*02:01複合體單體之標準ELISA測定。接著，獨特抗體純系經由ELISA陽性純系之DNA測序鑑別。藉由流動式細胞測量術(FACS分析)，使用A ESO157負載之活T2細胞進一步測試特異性及獨特純系與活細胞表面上之

HLA-A*02:01/肽複合體之結合。負載有不同肽及 β 2M之T2細胞首先經純化scFv噬菌體純系染色，接著經小鼠抗M13 mAb染色，且最後經R-PE結合之馬抗小鼠IgG(來自Vector Labs)染色。各染色步驟在30-60分鐘之間於冰上進行且細胞在染色之間洗滌兩次。在160個純系中，69個特異性識別ESO157負載之T2細胞。識別ESO157野生型肽之抗體亦識別ESO157 C9V突變肽。圖3提供經由FACS結合至肽負載之T2細胞之ESO157/HLA-A*02:01特異性噬菌體純系之實例。噬菌體純系特異性結合至ESO157野生型及ESO157 C9V突變體負載之T2細胞，且不識別負載有對照肽混合物之T2細胞(p19)或不負載由肽之T2細胞。

實例3.FACS陽性NY-ESO-1特異性噬菌體純系之表徵

針對內源性肽之抗體結合特異性評估

平均而言，人體中之各成核細胞表現約50萬不同肽/MHC I類複合體。為了將抗肽/MHCI複合體抗體開發為具有高特異性及治療指數之抗癌藥物，對抗體至關重要的是特異性識別靶肽/MHCI複合體，而非MHCI分子自身，或結合至細胞表面上呈遞之其他肽之MHCI分子。對於當前研究，相關MHCI分子為HLA-A*02:01。在吾人之噬菌體水平移動及篩選之早期階段期間，吾人消除結合至單獨的HLA-A*02:01分子或識別非ESO157肽(100p肽混合物)/HLA-A*02:01複合體之抗體(參見例如圖2)。接著在FACS結合分析中針對19種內源性HLA-A*02:01肽篩選頂部噬菌體純系。內源性肽來源於通常表現於多種類型之成核人類細胞中之蛋白質，如球蛋白 α 鏈、 β 鏈、核蛋白p68及其類似物。如圖3中所示，ESO157/HLA-A*02:01特異性抗體噬菌體純系結合ESO157肽/HLA-A*02:01複合體，但不結合藉由內源性肽摺疊之HLA-A*02:01複合體。吾人得出鑑別之抗體對ESO157肽/HLA-A*02:01複合體具有特異性，且不識別結合至其它HLA-A*02:01限制肽之HLA-A*02:01分子的結論。

成。HLA-A、-B及-C重鏈基因為高度多晶型的。對於各同功異型物，HLA基因根據重鏈序列之相似性另外分群。舉例而言，HLA-A分成不同等位基因，如HLA-A01、-A02、-A03等。對於HLA-A02對偶基因，存在多種亞型，如HLA-A*02:01、A*02:02等。在HLA-A02組之不同亞型之間，序列差異僅限於若干胺基酸。因此在許多情況下，結合至HLA-A*02:01分子之肽亦可與HLA-A02對偶基因之多個亞型形成複合體。如表9 (<http://www.allelefrequencies.net/>)中所示，儘管HLA-A*02:01在高加索人群體中為優勢HLA-A02亞型，在亞洲，A*02:05、A*02:06、A*02:07及A*02:11亦為常見HLA-A02亞型。NY-ESO-1抗體不僅在HLA-A*02:01，但亦在HLA-A02之其他亞型的情況下識別NY-ESO-1肽之能力將使可能能夠受益於NY-ESO-1抗體藥物治療之患者群體極大地變寬。吾人因此與HLA-A02對偶基因之其他亞型產生重組NY-ESO-1/MHCI複合體且測試ESO157/HLA-A*02:01特異性抗體對於此等其他複合體之結合親和力。使用ForteBio Octet QK測定結合親和力。5 µg/mL具有改變亞型之生物素標記之HLA-A*02 MHC複合體負載至抗生蛋白鏈菌素生物感測器上。在洗掉過量抗原之後，BsAb抗體在10 µg/mL下測試締合及解離。使用1:1結合位點、部分擬合模型計算結合參數。表10顯示若干NY-ESO-1 BsAb對於具有不同亞型之多種ESO157/HLA-A02複合體之結合親和力。發現所有測試之抗體識別結合至HLA-A02對偶基因之多個亞型的NY-ESO-1。

表9

	澳大利亞	中國	歐洲	印度	北非	撒哈拉沙漠以南的非洲	臺灣	美國
A*02:01	97.8%	39.5%	94.0%	53.9%	73.3%	56.3%	35.1%	79.4%
A*02:02	0.0%	0.1%	0.3%	0.9%	9.7%	24.1%	0.0%	3.6%
A*02:03	0.0%	15.3%	0.2%	4.9%	0.0%	0.4%	19.3%	2.2%
A*02:04	0.0%	0.1%	0.0%	0.3%	2.6%	0.4%	0.0%	0.2%
A*02:05	1.1%	0.9%	3.2%	5.8%	13.8%	15.9%	0.1%	4.5%
A*02:06	0.0%	16.0%	0.9%	10.6%	0.0%	0.7%	12.8%	5.5%

肽/MHC複合體特異性細胞毒性可藉由LDH細胞毒性分析(Promega)來分析。舉例而言，購自AllCells之人類T細胞藉由CD3/CD28戴諾珠粒(Invitrogen)根據製造商方案活化及擴增。活化T細胞(ATC)在具有10% FBS加上30 U/ml IL-2之RPMI1640培養基中培養及維持，且在第7-14天使用。活化T細胞(效應細胞)及靶標肽負載之T2細胞在5:1比率下在1 µg/ml或0.2 µg/ml BsAb下共培養16小時。肽負載之T2細胞藉由用50 µg/ml標靶NY-ESO-1 157-165肽(SLLMWITQC，SEQ ID NO: 4)或陰性對照肽，如AFP158肽(FMNKFIYEI，SEQ ID NO:177)培育T2細胞隔夜製備。視情況包括陰性對照BsAb，如AFP158/HLA-A*02:01特異性BsAb。細胞毒性藉由在培養物上清液中量測LDH活性而測定。

實例6.產生NY-ESO-1/HLA-A*02:01特異性嵌合抗原受體呈遞T細胞(CAR-T)

嵌合抗原受體療法(CAR-T療法)為靶向免疫療法之新穎形式。其合併單株抗體之精緻靶向特異性與藉由細胞毒性T細胞提供之強力細胞毒性及長期持久性。此技術使得T細胞能夠獨立於內源性TCR採集長期新穎抗原特異性。臨床試驗已在神經母細胞瘤(Louis C.U.等人, *Blood* 118(23):6050-6056)、B-ALL (Maude S.L.等人, *N. Engl. J. Med.* 371(16):1507-1517, 2014)、CLL (Brentjens R.J. 等人, *Blood* 118(18):4817-4828, 2011)及B細胞淋巴瘤(Kochenderfer J.N. 等人, *Blood*. 116(20):4099-4102, 2010)中顯示CAR-T療法之臨床顯著抗腫瘤活性。在一個研究中，報導用CD19-CAR T療法治療之30位患有B-ALL之患者中之90%完全緩解率(Maude S.L.等人, 前述)。

為了進一步探究NY-ESO-1/HLA-A*02:01特異性抗體之效能，構築NY-ESO-1 scFv表現CAR且轉導至T細胞中。舉例而言，使用慢病毒CAR表現載體構築NY-ESO-1/HLA-A*02:01特異性CAR。抗NY-ESO-

1/HLA-A*02:01 scFv接枝至具有以順式工程改造之CD28信號傳導域及TCR ζ 之第二代CAR(Mackall C.L.等人, *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 11(12):693-703, 2014)上以提供胞內T細胞刺激信號且活化T細胞。圖6提供NY-ESO-1 CAR構築體之示意性說明。

實例7. NY-ESO-1 CAR-T細胞之表徵

NY-ESO-1 CAR-T細胞之活體外細胞毒性研究

舉例而言，藉由用CAR載體轉染293T細胞產生含有NY-ESO-1/HLA-A*02:01特異性嵌合抗原受體之慢病毒。人類T細胞用於在藉由CD3/CD28珠粒(Dynabeads®, Invitrogen)刺激2天之後在30 U/ml之介白素-2存在下進行轉導。濃縮慢病毒塗覆至含T細胞之Retronectin(Takara)塗佈之6孔盤72小時。藉由FACS使用生物素標記之NY-ESO-1四聚物及PE結合之抗生蛋白鏈菌素評估轉導效率。在72小時且此後每隔3-4天進行重複FACS分析。

使用LDH細胞毒性分析進行轉導T細胞(NY-ESO-1 CAR-T細胞)之功能評估。待使用之效應細胞與靶細胞之比率包括例如5:1及10:1。靶細胞株包括埃-巴二氏病毒轉型之B細胞淋巴瘤細胞株IM9(ATCC CCL-159; HLA-A2⁺, NY-ESO-1⁺)、B細胞淋巴瘤細胞株U266(ATCC TIB-196; HLA-A2⁺, NY-ESO-1⁺)、結腸直腸腺癌細胞株Colo205(ATCC CCL-222; HLA-A2⁺, NY-ESO-1⁻)及套細胞淋巴瘤細胞株Jeko-1(ATCC CRL-3006; HLA-A2⁺, NY-ESO-1⁺)。作為對照，SK-HEP1-MiniG藉由用表現小型基因卡匣NY-ESO-1肽產生轉導腺癌細胞株SK-HEP1(ATCC HTB-52; HLA-A2⁺, NY-ESO-1⁻)，其導致NY-ESO-1/HLA-A*02:01複合體之高細胞表面表現量。測定表現NY-ESO-1 CAR之T細胞殺死標靶陽性癌細胞之特異性及效率。

實例8.產生及表徵全長IgG1 NY-ESO-1抗體

產生所選噬菌體純系之全長人類IgG1，例如在如所描述之

HEK293及中國倉鼠卵巢(CHO)細胞株中(Tomimatsu K.等人, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 73(7):1465-1469, 2009)。簡言之，將抗體可變區次選殖至具有相配之人類 λ 或 κ 輕鏈恆定區及人類IgG1恆定區序列的哺乳動物表現載體中。應用相同選殖策略，產生具有小鼠IgG1重鏈及輕鏈恆定區之嵌合NY-ESO-1全長抗體。在還原及非還原條件下，藉由電泳量測純化之全長IgG抗體的分子量。進行純化之NY-ESO-1小鼠嵌合IgG1抗體之SDS-PAGE以測定蛋白質純度。簡言之，2 μ g蛋白質與2.5 μ L NuPAGE LDS樣品緩衝液(Life Technologies, NP0008)混合且藉由去離子水使其總計達10 μ L。樣品在70°C下加熱10分鐘，接著負載至凝膠上。在180V下進行凝膠電泳1小時。

藉由流動式細胞測量術測試NY-ESO-1嵌合IgG1抗體與呈遞NY-ESO-1之SK-HEP1細胞之結合。SK-HEP1為HLA-A*02:01陽性及NY-ESO-1陰性細胞株。NY-ESO-1小型基因卡匣轉染至SK-HEP1細胞中以產生呈遞NY-ESO-1之SK-HEP1-miniG細胞。10 μ g/mL抗體持續1小時添加至冰上之細胞。在洗滌之後，添加R-PE結合之抗小鼠IgG(H+L)(載體 Labs#EI-2007)以偵測抗體結合。藉由ForteBio Octet QK測定小鼠嵌合IgG1 NY-ESO-1抗體之結合親和力。5 μ g/mL生物素標記之NY-ESO-1肽/HLA-A*02:01複合體負載至抗生蛋白鏈菌素生物感測器上。在洗掉過量抗原之後，在10 μ g/mL下測試小鼠嵌合全長抗體之締合及解離動力學。使用1:1結合位點、部分擬合模型計算結合參數。

在ELISA分析中測試NY-ESO-1特異性及陰性對照(如ET901)小鼠嵌合IgG1與NY-ESO-1/HLA-A*02:01、NY-ESO-1重組蛋白及游離NY-ESO-1肽之結合。抗體例如在3 $\times$ 連續稀釋下測試，從100 ng/mL開始，持續總共8個濃度。生物素化NY-ESO-1/A*02:01 MHC以2 μ g/mL塗佈至抗生蛋白鏈菌素盤上，NY-ESO-1蛋白質以2 μ g/mL塗佈且NY-

ESO-1肽以40 ng/mL塗佈。確定全長抗NY-ESO-1/HLA-A*02:01抗體僅在HLA-A02的情況下識別NY-ESO-1肽，且不結合重組NY-ESO-1蛋白質或游離NY-ESO-1肽之能力。

實例9.活體內功效研究

小鼠中之NY-ESO-1 CAR-T細胞治療

在SCID灰棕色(無功能性T、B、NK細胞)小鼠中產生HLA-A02⁺/NY-ESO-1⁺癌細胞株(如IM9或U266)皮下(s.c.)異種移植模型。動物在平均皮下腫瘤體積達到200 mm³時隨機分組。在CART投與之前24小時，動物藉由60 mg/kg環磷醯胺處理(經由腹膜內途徑)。小鼠分成4組(n=8-10隻小鼠/組)，其接受以下中的一者：(i)無處理，(ii)10⁷個模擬轉導之CAR T細胞，1×/週，持續4週，(iii)10⁷個抗EMC CAR T細胞，1×/週，持續4週，或(iv)2×10⁶個抗EMC CAR T細胞，1×/週，持續4週。關於腫瘤體積、不良反應、人類細胞因子概況、用於CAR T細胞浸潤之腫瘤及器官中之人類CD3⁺細胞之腫瘤病理組織學、血清NY-ESO-1、體重及一般健康狀況(進食、行走、每日活動)監測各組中之動物。

實例10.抗NY-ESO-1抗體藥劑之親和力成熟

此實例表明抗NY-ESO-1抗體藥劑之親和力成熟。特定言之，此實例特定表明藉由將隨機突變併入代表性抗NY-ESO-1抗體藥劑(純系#35)中，接著篩選及表徵抗體變異體產生一系列抗體變異體。

產生變異體噬菌體文庫

編碼抗NY-ESO-1純系#35 scFv之DNA使用GeneMorph II隨機突變誘發套組(Agilent Technologies)根據製造商說明書經受隨機突變誘發。在突變誘發之後，DNA序列選殖至表現scFv之噬菌體載體中以建立含有約5×10⁸個獨特噬菌體純系之變異體人類抗體噬菌體文庫。平均而言，相比於每個scFv序列介於1至4個核苷酸突變範圍內之親本

抗NY-ESO-1純系，變異體純系具有兩個核苷酸突變。

細胞水平移動

具有產生自純系#35之突變體的人類噬菌體scFv文庫用於相對於如實例2中所述之ESO157 C9V肽/HLA-A*02:01複合體水平移動。特定言之，使用細胞水平移動。人類scFv噬菌體文庫首先與負載有50 µg/ml之20種不同內源性肽(P20，SEQ ID NO: 133-152)之集合的T2細胞混合，作為陰性對照水平移動。陰性對照耗盡之人類scFv噬菌體文庫接著與負載有ESO157 C9V肽(第一輪1.5 µg/ml，第二輪0.8 µg/ml，第三輪0.4 µg/ml)之T2細胞混合。為了負載肽，T2細胞經20 µg/ml β2M存在下之含肽無血清RPMI1640培養基脈衝隔夜。在藉由PBS之延長洗滌之後，具有結合scFv抗體噬菌體之肽負載之T2細胞經快速離心。結合之純系接著經溶離且用於感染大腸桿菌XL1-Blue細胞。表現於細菌中之噬菌體純系接著經純化。進行3輪水平移動以富集特異性結合ESO157 C9V肽/HLA-A*02:01之scFv噬菌體純系。

抗生素蛋白鏈菌素ELISA盤塗佈有生物素標記ESO157 C9V肽/HLA-A*02:01複合體單體或生物素標記P20對照肽/HLA-A*02:01單體。相對於ESO157 C9V肽/HLA-A*02:01複合體之來自富集噬菌體呈現水平移動池之各別噬菌體純系在塗佈盤中培育。噬菌體純系之結合藉由HRP結合之抗M13抗體偵測且使用HRP受質顯影。吸收率在450 nm處讀取。33個陽性純系經由90個自噬菌體水平移動富集之噬菌體純系之ELISA篩選鑑別。19個獨特純系藉由33個ELISA陽性噬菌體純系之DNA測序鑑別。藉由流動式細胞測量術(FACS分析)，使用ESO157 C9V肽負載之活T2細胞進一步測試特異性及獨特純系與活細胞表面上之HLA-A*02:01/肽複合體之結合。對照包括無肽負載(僅細胞)之T2細胞及R-PE結合之馬抗小鼠IgG對照(僅二級抗體)。簡言之，負載有ESO157 C9V肽或P20肽集合之T2細胞首先藉由純化scFv噬菌體純系染

色，接著藉由小鼠抗M13 mAb第二次染色，且藉由來自Vector Labs之R-PE結合之馬抗小鼠IgG第三次染色。各染色步驟在冰上進行30-60分鐘且在染色步驟之間洗滌細胞兩次。在19個測試之獨特純系中，16個特異性識別ESO157負載之T2細胞。此等16個噬菌體純系特異性結合至ESO157 C9V負載之T2細胞且不識別在HLA-A*02:01的情況下負載有P20肽集合之T2細胞，或不負載肽之T2細胞。

實例11.抗NY-ESO-1親和力成熟變異體之表徵

肽結合特異性分析

為了證實藉由親和力成熟變異體抗體識別之肽之特異性，在負載有50 µg/ml肽之T2細胞中使用FACS結合分析針對ESO157 C9V肽及5種ESO157同系物肽(SEQ ID NO: 128-132，表11中所示)篩選噬菌體純系之結合。負載有20種內源性肽之混合物的T2細胞(P20，SEQ ID NO: 133-152)及無肽負載之T2細胞包括為陰性對照。藉由BLASTP及針對refseq蛋白質資料庫之子串檢索鑑別ESO157同系物肽。藉由FACS與對於抗體BB7.2之染色評估T2肽負載。BB7.2結合資料指示ESO157同源物2及4仍能夠結合T2細胞表面上之HLA-A*02:01分子。藉由FACS與對於抗M13抗體之染色評估結合至肽/MHC複合體之噬菌體純系。各分析之FACS平均螢光強度(MFI)值顯示於表12中。16個親和力成熟變異體噬菌體純系中之15個特異性結合ESO157 C9V肽/HLA-A*02:01複合體，其中僅變異體35-19與ESO157同系物5顯示交叉反應性。

表11

肽	序列	SEQ ID NO
ESO157 H1	SLLCDNGQC	128
ESO157 H2	SLLPELVQC	129
ESO157 H3	SLLSANEQC	130
ESO157 H4	SLLSESEQC	131
ESO157 H5	SLLTESEQC	132

SEQ ID NO: 4 , NY-ESO-1 157-165

SLLMWITQC

SEQ ID NO: 5 , NY-ESO-1 157-167

SLLMWITQCFL

SEQ ID NO: 6 , NY-ESO-1 157-165 C9V突變體

SLLMWITQV

SEQ ID NO: 7 , NY-ESO-1 157-165 A1

ALLMWITQC

SEQ ID NO: 8 , NY-ESO-1 157-165 A2

SALMWITQC

SEQ ID NO: 9 , NY-ESO-1 157-165 A3

SLAMWITQC

SEQ ID NO: 10 , NY-ESO-1 157-165 A4

SLLAWITQC

SEQ ID NO: 11 , NY-ESO-1 157-165 A5

SLLMAITQC

SEQ ID NO: 12 , NY-ESO-1 157-165 A6

SLLMWATQC

SEQ ID NO: 13 , NY-ESO-1 157-165 A7

SLLMWIAQC

SEQ ID NO: 14 , NY-ESO-1 157-165 A8

SLLMWITAC

SEQ ID NO: 15 , HCVR 35

CAGGTGCAGCTGGTGCAATCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCGGTGAA
GGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGACACCTTCAGCAGTTATTCTATCAGTTGGGTGCG
ACAGGCCCTGGACAAGGCCTTGAGTGGATGGGAAGGATCATCCCTATCCTTGGTAT
TGCAAACACTACGCACAGAAGTACCAGGGCAGAGTCACCCTTAGCGCGGACAAATCCA
CGAGTACCTCCTACATGGAGCTGAACAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTATATT
ACTGTGCGCGCGACTGGTCTTACTCTATCGATTACTGGGGTCAAGGTACTCTGGTGA
CCGTCTCCTCA

SEQ ID NO: 16 , HCVR 35

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGDTFSSYSISWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGIAN
YAQKYQGRVTLADKSTSTSYMELNSLRSEDTAVYYCARDWSYSIDYWGQGTLLTVSS

SEQ ID NO: 17 , HCVR 52

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGN
TNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARYSGYYAGDSWGQGTLL
TVSS

SEQ ID NO: 18 , HCVR 66

EVQLVESGAEVVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGRFIPNLNKG
NSAHKFEGRVSTADKFTNTAYMELRGLKSDDTAVYYCARGDYGSDQWGQGTLLTVSS

SEQ ID NO: 19 , HCVR 76

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAIWVRQAPGQGLEWMGGIIPFGTAN
YAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARYDSYVYDEWGQGTLLTVSS

SEQ ID NO: 20 , HCVR 116

QVQLVQSGPEVKKPGASMKVSCKASGYTFTKYGISWVRQAPGQGLEWMGWISADSGK
TSYAQNQLQGRVSLTIDTSTATAYMELRSLRSDDTAVYYCARDSDSWGQGTLLTVSS

SEQ ID NO: 21 , HCVR 146

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSQYTLTDLPMHWRQAPGKGLEWMGGFDPEDG
EIIYAQKFQGRVTMTEDTFTDTAYVELSSLRSEDTAVYYCARYVPYVSYSDSWGQGTLL
TVSS

SEQ ID NO: 22 , HCVR 148

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGGTFSSYAIWVRQAPGQGLEWMGGIIPFGTAN
YAQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSYWSWTPYDPWGQGTLLTV
SS

SEQ ID NO: 23 , HCVR 35-2

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGDTFSSYYISWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGIAN
YAQKYQGRVTLADKSTSTSYMELNSLRSEDTAVYYCARDWSYSIDYWGQGTLLTVSS

SEQ ID NO: 24 , HCVR 35-3

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGDTFSSYYISWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGIAN
YAQKYQGRVTLADKSTSTSYMELNSLRSEDTAVYYCAREWSYSIDYWGQGTLLTVSS

SEQ ID NO: 25 , HCVR 35-4

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASEDTFSSYYISWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGIAN
YAQKYQGRVTLADKSTSTSYMELNSLRSEDTAVYYCARDWSYSIDYWGQGTLLTVSS

SEQ ID NO: 26 , HCVR 35-6

QAQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGDTFSSYYISWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGIAN
YAQKYQGRVTLADKSTSTSYMELNSLRSEDTAVYYCARDWSYSIDYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 27 , HCVR 35-8

QVPLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGDTFSSYYISWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGIAN
YAQKYQGRVTLADKSTSTSYMELNNLRSEDTAVYYCARDWSYSIDYWGQGLTVTVSS
S

SEQ ID NO: 28 , HCVR 35-12

QVPLVQSGAEVKKPGSSVRVSKASGDTFSNYSISWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGIANY
AQKYQGRVTLADKSTSTSYMELNSLRSEDTAVYYCARDWSYSIDYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 29 , HCVR 35-15

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGDTFSSYYISWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGIAN
YAQKYQGRVTLADKSTSTSYMELNSLSSEDTAVYYCALDWSYSIDYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 30 , HCVR 35-16

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASEDTFSSYYISWVRQAPGQGLEWMGRIIPTLGIAN
YAQKYQGRVTLADKSTSTSYMELNSLRSEDTAVYYCARDWSYSIDYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 31 , HCVR 35-17

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGDTFSSYYISWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGIAN
YAQKYQGRVTLADKSTSTSYMELNSLRSEDTAVYYCARDWPYSIDYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 32 , HCVR 35-19

QEQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGDTFSSYYISWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGIAN
YAQKYQGRVTLADKSTSTSYMELNSLRSEDTAVYYCARDWSYSIDYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 33 , HCVR 35-20

QVHLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGDTFSSYYISWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGIAN
YAQKYQGRVTLADKSTSTSYMELNSLRSEDTAVYYCARDWSYSIDYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 34 , HCVR 35-21

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASADTFSSYYISWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGIAN
YAQKYQGRVTLADKSTSTSYMELNSLSSEDTAVYYCARDWSYSIDYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 35 , LCVR 35

CAGTCTGTCGTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGCGGCCCCAGGACAGAAGGTCAC
CATCTCCTGCTCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGAATAATTATGTATCCTGGTACCA
GCAGCTCCCAGGAACAGCCCCCAAACCTCCTCATTTATGACAATAATAAGCGACCCTC
AGGGATTCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACGTCAGCCACCCTGGGCAT
CACCGGACTCCAGACTGGGGACGAGGCCGATTATTACTGCGGAACATGGGATAGCA
GCCTGAGTGCTTGGGTGTTCCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTAGGT

SEQ ID NO: 36 , LCVR 35

QSVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIP
DRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSSLSAWVFGGGTKLTVLG

SEQ ID NO: 37 , LCVR 52

QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGDTNRPSGV
PDRISGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSNLYTYVFGTGTKVTVLG

SEQ ID NO: 38 , LCVR 66

QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGV
PDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGSWVFGGGTKLTVLG

SEQ ID NO: 39 , LCVR 76

QSVVTQPPSLSGAPGQRTISCNGSGSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSG
VPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGWGIFGGGKLTVLG

SEQ ID NO: 40 , LCVR 116

QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIP
DRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSSLAEVFGTGTKVTVLG

SEQ ID NO: 41 , LCVR 146

DVVMQTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRA
SGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPYTFGQGTKLEIKR

SEQ ID NO: 42 , LCVR 148

LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVIYYDSDRPSGIPER
FSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHYVFGTGTKVTVLG

SEQ ID NO: 43 , LCVR 35-2

QSVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNERPSGIP
DRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSSLASWVFGGGTKLTVLG

SEQ ID NO: 44 , LCVR 35-3

QSVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIP
DRFSGSKSGTSATLGITGLRTGDEADYYCGTWDSSLASWVFGGGTKLTVLG

SEQ ID NO: 45 , LCVR 35-12

QSVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIP
DRFSGSKSGTSTTLGITGLQTGDEADYYCGTWDSSLASWVFGGGTKLTVLG

SEQ ID NO: 46 , LCVR 35-14

QSVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPELLIYDNNKRPSGIP
DRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSSLASWVFGGGTKLTVLG

SEQ ID NO: 47 , LCVR 35-15

QSVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIP
DRFSASKSGTSATLGITGLQTRDEADYYCGTWDSSLASWVFGGGTKLTVLG

SEQ ID NO: 48 , LCVR 35-16

QSVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIP
GRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSSLASWVFGGGTKLTVLG

SEQ ID NO: 49 , LCVR 35-18

QSVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGAAPKLLIYDNNKRPSGIP
DRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSSLASWVFGGGTKLTVLG

SEQ ID NO: 50 , LCVR 35-19

QSVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGISNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNMRPSGIP
DRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSSLASWVFGGGTKLTVLG

SEQ ID NO: 51 , HC-CDR1 35

GDTFSSYS

SEQ ID NO: 52 , HC-CDR1 52

GYTFTSYG

SEQ ID NO: 53 , HC-CDR1 76

GGTFSSYA

SEQ ID NO: 54 , HC-CDR1 116

GYTFTKYG

SEQ ID NO: 55 , HC-CDR1 146

GYTLTDLP

SEQ ID NO: 56 , HC-CDR1 35-2

GDTFSSYY

SEQ ID NO: 57 , HC-CDR1 35-4

EDTFSSYY

SEQ ID NO: 58 , HC-CDR1 35-12

GDTFSNYS

SEQ ID NO: 59 , HC-CDR1 35-21

ADTFSSYY

SEQ ID NO: 60 , HC-CDR2 35

IIPILGIA

SEQ ID NO: 61 , HC-CDR2 52

ISAYNGNT

SEQ ID NO: 62 , HC-CDR2 66

FIPNLNKG

SEQ ID NO: 63 , HC-CDR2 76

IPIFGTA

SEQ ID NO: 64 , HC-CDR2 116

ISADSGKT

SEQ ID NO: 65 , HC-CDR2 146

FDPEDGEI

SEQ ID NO: 66 , HC-CDR2 35-16

IIPTLGIA

SEQ ID NO: 67 , HC-CDR3 35

ARDWSYSIDY

SEQ ID NO: 68 , HC-CDR3 52

ARYSGYYAGDS

SEQ ID NO: 69 , HC-CDR3 66

ARGDYGSDQ

SEQ ID NO: 70 , HC-CDR3 76

ARYDSYVYDE

SEQ ID NO: 71 , HC-CDR3 116

ARDDDS

SEQ ID NO: 72 , HC-CDR3 146

ARYVPYVSYSDS

SEQ ID NO: 73 , HC-CDR3 148

ARSYWSWTPYDP

SEQ ID NO: 74 , HC-CDR3 35-3

AREWSYSIDY

SEQ ID NO: 75 , HC-CDR3 35-15

ALDWSYSIDY

SEQ ID NO: 76 , HC-CDR3 35-17

ARDWPYSIDY

SEQ ID NO: 77 , LC-CDR1 35

SSNIGNNY

SEQ ID NO: 78 , LC-CDR1 52

SSNIGAGYD

SEQ ID NO: 79 , LC-CDR1 76

GSNIGAGYD

SEQ ID NO: 80 , LC-CDR1 146

QSLLSNGYNY

SEQ ID NO: 81 , LC-CDR1 148

NIGSKS

SEQ ID NO: 82 , LC-CDR1 35-19

ISNIGNNY

SEQ ID NO: 83 , LC-CDR2 35

DNN

SEQ ID NO: 84 , LC-CDR2 52

GDT

SEQ ID NO: 85 , LC-CDR2 66

GNS

SEQ ID NO: 86 , LC-CDR2 146

LGS

SEQ ID NO: 87 , LC-CDR2 148

YDS

SEQ ID NO: 88 , LC-CDR3 35

GTWDSSLSAWV

SEQ ID NO: 89 , LC-CDR3 52

QSYDSNLYTYV

SEQ ID NO: 90 , LC-CDR3 66

QSYDSSLSGSWV

SEQ ID NO: 91 , LC-CDR3 76

QSYDSSLSGWGI

SEQ ID NO: 92 , LC-CDR3 116

GTWDSSLSAEV

SEQ ID NO: 93 , LC-CDR3 146

MQALQTPYT

SEQ ID NO: 94 , LC-CDR3 148

QVWDSSSDHYV

SEQ ID NO: 95 , HC-CDR1共同序列

G-G/Y-T-F-S/T-S-Y-A/G

SEQ ID NO: 96 , HC-CDR2共同序列1

I-I-P-I-F/L-G-T-A

SEQ ID NO: 97 , HC-CDR2共同序列2

I-S-A-X-X-G-X-T

SEQ ID NO: 98 , HC-CDR3共同序列

A-R-Y-X-X-Y

SEQ ID NO: 99 , LC-CDR1共同序列

S-S-N-I-G-A/N-G/N-Y

SEQ ID NO: 100 , LC-CDR3共同序列

G/Q-S/T-W/Y-D-S/T-S-L-S/T-A/G-W/Y-V

SEQ ID NO: 101 , HC-FR1 35

VQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCAS

SEQ ID NO: 102 , HC-FR1 35-6

AQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCAS

SEQ ID NO: 103 , HC-FR1 35-8

VPLVQSGAEVKKPGSSVKVSCAS

SEQ ID NO: 104 , HC-FR1 35-12

VPLVQSGAEVKKPGSSVRVSCAS

SEQ ID NO: 105 , HC-FR1 35-19

EQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCAS

SEQ ID NO: 106 , HC-FR1 35-20

VHLVQSGAEVKKPGSSVKVSCAS

SEQ ID NO: 107 , HC-FR2 35

ISWVRQAPGQGLEWMGR

SEQ ID NO: 108 , HC-FR3 35

NYAQKYQGRVTLADKSTSTSYMELNSLRSEDVAVYYC

SEQ ID NO: 109 , HC-FR3 35-8

NYAQKYQGRVTLADKSTSTSYMELNNLRSEDVAVYYC

SEQ ID NO: 110 , HC-FR3 35-15

NYAQKYQGRVTLADKSTSTSYMELNSLSSEDVAVYYC

SEQ ID NO: 111 , HC-FR4 35

ARDWSYSIDYWGQGTLVTVSSTSGQAGQHSHHHHHGAYPYDVPDYAS

SEQ ID NO: 112 , HC-FR4 35-3

AREWSYSIDYWGQGTLVTVSSTSGQAGQHSHHHHHGAYPYDVPDYAS

SEQ ID NO: 113 , HC-FR4 35-15

ALDWSYSIDYWGQGTLVTVSSTSGQAGQHSHHHHHGAYPYDVPDYAS

SEQ ID NO: 114 , HC-FR4 35-17

ARDWPYSIDYWGQGTLVTVSSTSGQAGQHSHHHHHGAYPYDVPDYAS

SEQ ID NO: 115 , LC-FR1 35

VVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGS

SEQ ID NO: 116 , LC-FR2 35

VSWYQQLPGTAPKLLIY

SEQ ID NO: 117 , LC-FR2 35-14

VSWYQQLPGTAPELLIY

SEQ ID NO: 118 , LC-FR2 35-18

VSWYQQLPGAAPKLLIY

SEQ ID NO: 119 , LC-FR3 35

KRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYC

SEQ ID NO: 120 , LC-FR3 35-2

ERPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYC

SEQ ID NO: 121 , LC-FR3 35-3

KRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLRTGDEADYYC

SEQ ID NO: 122 , LC-FR3 35-12

KRPSGIPDRFSGSKSGTSTTLGITGLQTGDEADYYC

SEQ ID NO: 123 , LC-FR3 35-15

KRPSGIPDRFSASKSGTSATLGITGLQTRDEADYYC

SEQ ID NO: 124 , LC-FR3 35-16

KRPSGIPGRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYC

SEQ ID NO: 125 , LC-FR3 35-19

MRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYC

SEQ ID NO: 126 , LC-FR4 35

GTWDSSLSAWVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAQ

SEQ ID NO: 127 , LC-FR4 35-3

GTWDSSLSAWVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAQ

SEQ ID NO: 128 , ESO 157同系物1

SLLCDNGQC

SEQ ID NO: 129 , ESO 157同系物2

SLLPELVQC

SEQ ID NO: 130 , ESO 157同系物3

SLLSANEQC

SEQ ID NO: 131 , ESO 157同系物4

SLLSESEQC

SEQ ID NO: 132 , ESO 157同系物5

SLLTESEQC

SEQ ID NO: 133 , C3對照肽(A2E-7)

YLLPAIVHI

SEQ ID NO: 134 , A2E-1

LLDVPTAAV

SEQ ID NO: 135 , A2E-2

TLWVDPYEV

SEQ ID NO: 136 , A2E-3

FLLDHLKRV

SEQ ID NO: 137 , A2E-4

LLLDVPTAAV

SEQ ID NO: 138 , A2E-5

VLFRGGPRGLLAV

SEQ ID NO: 139 , A2E-6

SLLPAIVEL

SEQ ID NO: 140 , A2E-8

FLLPTGAEA

SEQ ID NO: 141 , A2E-9

LLDPKLCYLL

SEQ ID NO: 142 , A2E-11

MLLSVPLLLG

SEQ ID NO: 143 , A2E-17

MVDGTLLLL

SEQ ID NO: 144 , DMTN對照

SLPHFHHPET

SEQ ID NO: 145 , PIM1對照

LLYDMVCGDIP

SEQ ID NO: 146 , IFI30對照

LLLDVPTAAVQ

SEQ ID NO: 147 , IFI30對照

LLLDVPTAAVQA

SEQ ID NO: 148 , SSR1對照

VLFRGGPRGLLAVA

SEQ ID NO: 149 , RPS6KB1對照

YMAPEILMRS

SEQ ID NO: 150 , CSF2RA對照

FIYNADLMNC

SEQ ID NO: 151 , IL7對照

KQYESVLMVSI

SEQ ID NO: 152 , β 球蛋白對照

KVNVDEVGGE

【符號說明】

無

【序列表】

<110> 誠 劉
宏 劉
奕陽 許
京宜 向

<120> 靶向NY-ESO-1肽/MHC複合體之構築體及其用途

<130> 750042000441

<140> Not Yet Assigned

<141> Concurrently Herewith

<150> 62/184,185

<151> 2015-06-24

<160> 152

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 180

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> NY-ESO-1蛋白質

<400> 1

Met	Gln	Ala	Glu	Gly	Arg	Gly	Thr	Gly	Gly	Ser	Thr	Gly	Asp	Ala	Asp
1				5				10					15		
Gly	Pro	Gly	Gly	Pro	Gly	Ile	Pro	Asp	Gly	Pro	Gly	Gly	Asn	Ala	Gly
		20						25					30		
Gly	Pro	Gly	Glu	Ala	Gly	Ala	Thr	Gly	Gly	Arg	Gly	Pro	Arg	Gly	Ala
		35					40					45			
Gly	Ala	Ala	Arg	Ala	Ser	Gly	Pro	Gly	Gly	Gly	Ala	Pro	Arg	Gly	Pro
	50					55					60				
His	Gly	Gly	Ala	Ala	Ser	Gly	Leu	Asn	Gly	Cys	Cys	Arg	Cys	Gly	Ala
65					70					75				80	
Arg	Gly	Pro	Glu	Ser	Arg	Leu	Leu	Glu	Phe	Tyr	Leu	Ala	Met	Pro	Phe
			85						90				95		
Ala	Thr	Pro	Met	Glu	Ala	Glu	Leu	Ala	Arg	Arg	Ser	Leu	Ala	Gln	Asp
		100						105					110		
Ala	Pro	Pro	Leu	Pro	Val	Pro	Gly	Val	Leu	Leu	Lys	Glu	Phe	Thr	Val
		115					120					125			
Ser	Gly	Asn	Ile	Leu	Thr	Ile	Arg	Leu	Thr	Ala	Ala	Asp	His	Arg	Gln
	130					135					140				
Leu	Gln	Leu	Ser	Ile	Ser	Ser	Cys	Leu	Gln	Gln	Leu	Ser	Leu	Leu	Met
145					150					155					160
Trp	Ile	Thr	Gln	Cys	Phe	Leu	Pro	Val	Phe	Leu	Ala	Gln	Pro	Pro	Ser
				165					170					175	
Gly	Gln	Arg	Arg												

180

<210> 2
<211> 543
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<223> NY-ESO-1 CDS

<400> 2
atgcaggccg aaggccgggg cacagggggt tcgacgggcg atgctgatgg cccaggaggc 60
cctggcattc ctgatggccc aggggggcaat gctggcggcc caggagaggc ggggtgccacg 120
ggcggcagag gtccccgggg cgacaggggca gcaagggcct cggggccggg aggaggcgcc 180
ccgcgggggtc cgcatggcgg cgcggcitca gggctgaatg gatgctgcag atgcggggcc 240
agggggccgg agagccgcct gcttgagttc tacctcgcca tgcctttcgc gacacccatg 300
gaagcagagc tggcccgcag gagcctggcc caggatgccc caccgcttcc cgtgccaggg 360
gtgtttctga aggagttcac tgtgtccggc aacatactga ctatccgact gactgctgca 420
gaccaccgcc aactgcagct ctccatcagc tcctgtctcc agcagctttc cctgttgatg 480
tggatcacgc agtgcittct gcccgtgttt ttggctcagc ctccctcagg gcagaggcgc 540
taa 543

<210> 3
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> NY-ESO-1 155-163

<400> 3
Gln Leu Ser Leu Leu Met Trp Ile Thr
1 5

<210> 4
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> NY-ESO-1 157-165

<400> 4
Ser Leu Leu Met Trp Ile Thr Gln Cys
1 5

<210> 5
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<220>

<223> NY-ESO-1 157-167

<400> 5

Ser Leu Leu Met Trp Ile Thr Gln Cys Phe Leu
1 5 10

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> NY-ESO-1 157-165 C9V突變體

<400> 6

Ser Leu Leu Met Trp Ile Thr Gln Val
1 5

<210> 7

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> NY-ESO-1 157-165 A1

<400> 7

Ala Leu Leu Met Trp Ile Thr Gln Cys
1 5

<210> 8

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> NY-ESO-1 157-165 A2

<400> 8

Ser Ala Leu Met Trp Ile Thr Gln Cys
1 5

<210> 9

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> NY-ESO-1 157-165 A3

<400> 9

Ser Leu Ala Met Trp Ile Thr Gln Cys
1 5

<210> 10
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> NY-ESO-1 157-165 A4

<400> 10
Ser Leu Leu Ala Trp Ile Thr Gln Cys
1 5

<210> 11
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> NY-ESO-1 157-165 A5

<400> 11
Ser Leu Leu Met Ala Ile Thr Gln Cys
1 5

<210> 12
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> NY-ESO-1 157-165 A6

<400> 12
Ser Leu Leu Met Trp Ala Thr Gln Cys
1 5

<210> 13
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> NY-ESO-1 157-165 A7

<400> 13
Ser Leu Leu Met Trp Ile Ala Gln Cys
1 5

<210> 14
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> NY-ESO-1 157-165 A8

<400> 14
 Ser Leu Leu Met Trp Ile Thr Ala Cys
 1 5

<210> 15
 <211> 351
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HCVR 35

<400> 15
 caggtgcagc tgggtgcaatc tggagctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
 tcctgcaagg ctcttgagaga caccctcagc agttattcta tcagttgggt gcgacaggcc 120
 cctggacaag gcccttgagtg gatgggaagg atcatcccta tccttggtat tgcaaaactac 180
 gcacagaagt accagggcag agtcacccct agcgcggaca aatccacgag tacctcctac 240
 atggagctga acagcctgag atctgaggac acggccgtat attactgtgc gcgcgactgg 300
 tcttactcta tcgattactg gggicaaggt actctggtga ccgtctctc a 351

<210> 16
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HCVR 35

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

<210> 17
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HCVR 52

<400> 17
 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 Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Tyr Ser Gly Tyr Tyr Ala Gly Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 18
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HCVR 66

<400> 18
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys Arg Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Arg Phe Ile Pro Asn Leu Asn Lys Gly Asn Ser Ala His Lys Phe
 50 55 60
 Glu Gly Arg Val Ser Phe Thr Ala Asp Lys Phe Thr Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Arg Gly Leu Lys Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Asp Tyr Gly Ser Asp Gln Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115

<210> 19
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HCVR 76

<400> 19
 Glu 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 Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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 Tyr Asp Ser Tyr Val Tyr Asp Glu Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 20
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HCVR 116

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

<210> 21
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HCVR 146

<400> 21
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Asp Leu
 20 25 30
 Pro Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Phe Asp Pro Glu Asp Gly Glu Ile Ile Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Phe Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Val Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Tyr Val Pro Tyr Val Ser Tyr Ser Asp Ser Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 22
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HCVR 148

<400> 22
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln 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 Ser Tyr Trp Ser Trp Thr Pro Tyr Asp Pro Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 23

<211> 117
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HCVR 35-2

<400> 23
 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 Asp Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Tyr Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Tyr
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Leu Ser Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ser Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Trp Ser Tyr Ser Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 24
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HCVR 35-3

<400> 24
 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 Asp Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Tyr Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Tyr
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Leu Ser Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ser Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Glu Trp Ser Tyr Ser Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 25
 <211> 117

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HCVR 35-4

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

<210> 26
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HCVR 35-6

<400> 26
Gln Ala 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 Asp Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Tyr Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Tyr
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Leu Ser Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ser Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Trp Ser Tyr Ser Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 27
<211> 117
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HCVR 35-8

<400> 27

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

<210> 28

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HCVR 35-12

<400> 28

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

<210> 29

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HCVR 35-15

<400> 29

```

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

```

<210> 30

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HCVR 35-16

<400> 30

```

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

```

<210> 31

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HCVR 35-17

<400> 31

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

<210> 32

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HCVR 35-19

<400> 32

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

<210> 33

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HCVR 35-20

<400> 33

```

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

```

<210> 34

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HCVR 35-21

<400> 34

```

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

```

<210> 35

<211> 333

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> LCVR 35

<400> 35
cagtctgtcg tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60
tcctgctctg gaagcagctc caacattggg aataattatg tctcctggta ccagcagctc 120
ccaggaacag cccccaact cctcatttat gacaataata agcgaccctc agggattcct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tgggcatcac cggactccag 240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata gcagcctgag tgcttgggtg 300
ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta ggt 333

<210> 36
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LCVR 35

<400> 36
Gln Ser Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15
Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
20 25 30
Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80
Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu
85 90 95
Ser Ala Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 37
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LCVR 52

<400> 37
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
20 25 30
Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Leu Ile Tyr Gly Asp Thr Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Ile
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Asn
85 90 95

Leu Tyr Thr Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 38
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LCVR 66

<400> 38
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
20 25 30
Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser
85 90 95
Leu Ser Gly Ser Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110
Gly

<210> 39
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LCVR 76

<400> 39
Gln Ser Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Leu Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Asn Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Gly
20 25 30
Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser
85 90 95
Leu Ser Gly Trp Gly Ile Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110
Gly

<210> 40
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LCVR 116

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

<210> 41
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LCVR 146

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

<210> 42
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LCVR 148

<400> 42
 Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
 1 5 10 15
 Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
 35 40 45
 Tyr Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
 65 70 75 80
 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
 85 90 95
 Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105

<210> 43
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LCVR 35-2

<400> 43
 Gln Ser Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
 20 25 30
 Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Asp Asn Asn Glu Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln
 65 70 75 80
 Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu
 85 90 95
 Ser Ala Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
 100 105 110

<210> 44
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> LCVR 35-3

<400> 44

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

<210> 45

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> LCVR 35-12

<400> 45

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

<210> 46

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> LCVR 35-14

<400> 46

Gln	Ser	Val	Val	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Val	Ser	Ala	Ala	Pro	Gly	Gln

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

<210> 47
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LCVR 35-15

<400> 47																	
Gln	Ser	Val	Val	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Val	Ser	Ala	Ala	Pro	Gly	Gln		
1				5					10					15			
Lys	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Ser	Gly	Ser	Ser	Ser	Asn	Ile	Gly	Asn	Asn		
			20					25					30				
Tyr	Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu	Pro	Gly	Thr	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu		
		35					40					45					
Ile	Tyr	Asp	Asn	Asn	Lys	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser		
	50					55					60						
Ala	Ser	Lys	Ser	Gly	Thr	Ser	Ala	Thr	Leu	Gly	Ile	Thr	Gly	Leu	Gln		
65					70					75					80		
Thr	Arg	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gly	Thr	Trp	Asp	Ser	Ser	Leu		
			85						90						95		
Ser	Ala	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly			
			100					105						110			

<210> 48
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LCVR 35-16

<400> 48																	
Gln	Ser	Val	Val	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Val	Ser	Ala	Ala	Pro	Gly	Gln		
1				5					10					15			
Lys	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Ser	Gly	Ser	Ser	Ser	Asn	Ile	Gly	Asn	Asn		
			20					25					30				
Tyr	Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu	Pro	Gly	Thr	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu		
		35					40					45					

Ile	Tyr	Asp	Asn	Asn	Lys	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Gly	Arg	Phe	Ser
50						55				60					
Gly	Ser	Lys	Ser	Gly	Thr	Ser	Ala	Thr	Leu	Gly	Ile	Thr	Gly	Leu	Gln
65					70					75					80
Thr	Gly	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gly	Thr	Trp	Asp	Ser	Ser	Leu
				85					90					95	
Ser	Ala	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	
			100					105					110		

<210> 49
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LCVR 35-18

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

<210> 50
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LCVR 35-19

Gln	Ser	Val	Val	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Val	Ser	Ala	Ala	Pro	Gly	Gln
1				5					10					15	
Lys	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Ser	Gly	Ser	Ile	Ser	Asn	Ile	Gly	Asn	Asn
			20					25					30		
Tyr	Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu	Pro	Gly	Thr	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu
		35					40					45			
Ile	Tyr	Asp	Asn	Asn	Met	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser
50						55				60					
Gly	Ser	Lys	Ser	Gly	Thr	Ser	Ala	Thr	Leu	Gly	Ile	Thr	Gly	Leu	Gln
65					70					75					80
Thr	Gly	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gly	Thr	Trp	Asp	Ser	Ser	Leu

Ser	Ala	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly
				85				90					95	
			100					105					110	

<210> 51
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HC-CDR1 35

<400> 51
 Gly Asp Thr Phe Ser Ser Tyr Ser
 1 5

<210> 52
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HC-CDR1 52

<400> 52
 Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Gly
 1 5

<210> 53
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HC-CDR1 76

<400> 53
 Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
 1 5

<210> 54
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HC-CDR1 116

<400> 54
 Gly Tyr Thr Phe Thr Lys Tyr Gly
 1 5

<210> 55
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HC-CDR1 146

<400> 55
 Gly Tyr Thr Leu Thr Asp Leu Pro
 1 5

<210> 56
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HC-CDR1 35-2

<400> 56
 Gly Asp Thr Phe Ser Ser Tyr Tyr
 1 5

<210> 57
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HC-CDR1 35-4

<400> 57
 Glu Asp Thr Phe Ser Ser Tyr Tyr
 1 5

<210> 58
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HC-CDR1 35-12

<400> 58
 Gly Asp Thr Phe Ser Asn Tyr Ser
 1 5

<210> 59

<211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HC-CDR1 35-21

<400> 59
 Ala Asp Thr Phe Ser Ser Tyr Tyr
 1 5

<210> 60
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HC-CDR2 35

<400> 60
 Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ile Ala
 1 5

<210> 61
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HC-CDR2 52

<400> 61
 Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr
 1 5

<210> 62
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HC-CDR2 66

<400> 62
 Phe Ile Pro Asn Leu Asn Lys Gly
 1 5

<210> 63
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> HC-CDR2 76

<400> 63

Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala
1 5

<210> 64

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HC-CDR2 116

<400> 64

Ile Ser Ala Asp Ser Gly Lys Thr
1 5

<210> 65

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HC-CDR2 146

<400> 65

Phe Asp Pro Glu Asp Gly Glu Ile
1 5

<210> 66

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HC-CDR2 35-16

<400> 66

Ile Ile Pro Thr Leu Gly Ile Ala
1 5

<210> 67

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HC-CDR3 35

<400> 67

Ala Arg Asp Trp Ser Tyr Ser Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 68

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HC-CDR3 52

<400> 68

Ala Arg Tyr Ser Gly Tyr Tyr Ala Gly Asp Ser
1 5 10

<210> 69

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HC-CDR3 66

<400> 69

Ala Arg Gly Asp Tyr Gly Ser Asp Gln
1 5

<210> 70

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HC-CDR3 76

<400> 70

Ala Arg Tyr Asp Ser Tyr Val Tyr Asp Glu
1 5 10

<210> 71

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HC-CDR3 116

<400> 71

Ala Arg Asp Asp Asp Ser

1

5

<210> 72
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-CDR3 146

<400> 72
Ala Arg Tyr Val Pro Tyr Val Ser Tyr Ser Asp Ser
1 5 10

<210> 73
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-CDR3 148

<400> 73
Ala Arg Ser Tyr Trp Ser Trp Thr Pro Tyr Asp Pro
1 5 10

<210> 74
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-CDR3 35-3

<400> 74
Ala Arg Glu Trp Ser Tyr Ser Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 75
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-CDR3 35-15

<400> 75
Ala Leu Asp Trp Ser Tyr Ser Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 76
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HC-CDR3 35-17

<400> 76
 Ala Arg Asp Trp Pro Tyr Ser Ile Asp Tyr
 1 5 10

<210> 77
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LC-CDR1 35

<400> 77
 Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr
 1 5

<210> 78
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LC-CDR1 52

<400> 78
 Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp
 1 5

<210> 79
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LC-CDR1 76

<400> 79
 Gly Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp
 1 5

<210> 80
 <211> 11
 <212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> LC-CDR1 146

<400> 80

Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr
1 5 10

<210> 81

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> LC-CDR1 148

<400> 81

Asn Ile Gly Ser Lys Ser
1 5

<210> 82

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> LC-CDR1 35-19

<400> 82

Ile Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr
1 5

<210> 83

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> LC-CDR2 35

<400> 83

Asp Asn Asn
1

<210> 84

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> LC-CDR2 52

<400> 84
Gly Asp Thr
1

<210> 85
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-CDR2 66

<400> 85
Gly Asn Ser
1

<210> 86
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-CDR2 146

<400> 86
Leu Gly Ser
1

<210> 87
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-CDR2 148

<400> 87
Tyr Asp Ser
1

<210> 88
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-CDR3 35

<400> 88

Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ala Trp Val
1 5 10

<210> 89
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-CDR3 52

<400> 89
Gln Ser Tyr Asp Ser Asn Leu Tyr Thr Tyr Val
1 5 10

<210> 90
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-CDR3 66

<400> 90
Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Gly Ser Trp Val
1 5 10

<210> 91
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-CDR3 76

<400> 91
Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Gly Trp Gly Ile
1 5 10

<210> 92
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-CDR3 116

<400> 92
Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ala Glu Val
1 5 10

<210> 93
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LC-CDR3 146

<400> 93
 Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Tyr Thr
 1 5

<210> 94
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LC-CDR3 148

<400> 94
 Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His Tyr Val
 1 5 10

<210> 95
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HC-CDR1共同序列

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 2
 <223> Xaa=G或Y

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 5
 <223> Xaa = S或T

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 8
 <223> Xaa = A或G

<400> 95
 Gly Xaa Thr Phe Xaa Ser Tyr Xaa
 1 5

<210> 96
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HC-CDR2共同序列1

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 5
 <223> Xaa = F或L

<400> 96
 Ile Ile Pro Ile Xaa Gly Thr Ala
 1 5

<210> 97
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HC-CDR2共同序列2

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 4, 5, 7
 <223> Xaa = 任何氨基酸

<400> 97
 Ile Ser Ala Xaa Xaa Gly Xaa Thr
 1 5

<210> 98
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HC-CDR3共同序列

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 4, 5
 <223> Xaa = 任何氨基酸

<400> 98
 Ala Arg Tyr Xaa Xaa Tyr
 1 5

<210> 99

<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-CDR1共同序列

<220>
<221> VARIANT
<222> 6, 7
<223> Xaa = A或N

<220>
<221> VARIANT
<222> 7
<223> Xaa = G或N

<400> 99
Ser Ser Asn Ile Gly Xaa Xaa Tyr
1 5

<210> 100
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-CDR3共同序列

<220>
<221> VARIANT
<222> 1
<223> Xaa = G或Q

<220>
<221> VARIANT
<222> 2
<223> Xaa = S或T

<220>
<221> VARIANT
<222> 3
<223> Xaa = W或Y

<220>
<221> VARIANT
<222> 5
<223> Xaa = S或T

<220>
<221> VARIANT
<222> 8
<223> Xaa = S或T

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 9
 <223> Xaa = A或G

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 10
 <223> Xaa = W或Y

<400> 100
 Xaa Xaa Xaa Asp Xaa Ser Leu Xaa Xaa Xaa Val
 1 5 10

<210> 101
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HC-FR1 35

<400> 101
 Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser Ser
 1 5 10 15
 Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser
 20

<210> 102
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HC-FR1 35-6

<400> 102
 Ala Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser Ser
 1 5 10 15
 Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser
 20

<210> 103
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HC-FR1 35-8

<400> 103
 Val Pro Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser Ser

1

5

10

15

Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser

20

<210> 104

<211> 24

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HC-FR1 35-12

<400> 104

Val Pro Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser Ser

1 5 10 15

Val Arg Val Ser Cys Lys Ala Ser

20

<210> 105

<211> 24

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HC-FR1 35-19

<400> 105

Glu Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser Ser

1 5 10 15

Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser

20

<210> 106

<211> 24

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HC-FR1 35-20

<400> 106

Val His Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser Ser

1 5 10 15

Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser

20

<210> 107

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> HC-FR2 35

<400> 107
Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly
1 5 10 15
Arg

<210> 108
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-FR3 35

<400> 108
Asn Tyr Ala Gln Lys Tyr Gln Gly Arg Val Thr Leu Ser Ala Asp Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Thr Ser Tyr Met Glu Leu Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp
20 25 30
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
35

<210> 109
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-FR3 35-8

<400> 109
Asn Tyr Ala Gln Lys Tyr Gln Gly Arg Val Thr Leu Ser Ala Asp Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Thr Ser Tyr Met Glu Leu Asn Asn Leu Arg Ser Glu Asp
20 25 30
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
35

<210> 110
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-FR3 35-15

<400> 110
Asn Tyr Ala Gln Lys Tyr Gln Gly Arg Val Thr Leu Ser Ala Asp Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Thr Ser Tyr Met Glu Leu Asn Ser Leu Ser Ser Glu Asp
 20 25 30
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 35

<210> 111
<211> 46
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-FR4 35

<400> 111
Ala Arg Asp Trp Ser Tyr Ser Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 1 5 10 15
Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Gly Gln Ala Gly Gln His His His His
 20 25 30
His His Gly Ala Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala Ser
 35 40 45

<210> 112
<211> 46
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-FR4 35-3

<400> 112
Ala Arg Glu Trp Ser Tyr Ser Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 1 5 10 15
Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Gly Gln Ala Gly Gln His His His His
 20 25 30
His His Gly Ala Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala Ser
 35 40 45

<210> 113
<211> 46
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-FR4 35-15

<400> 113
Ala Leu Asp Trp Ser Tyr Ser Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 1 5 10 15
Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Gly Gln Ala Gly Gln His His His His
 20 25 30
His His Gly Ala Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala Ser
 35 40 45

<210> 114
 <211> 46
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HC-FR4 35-17

<400> 114
 Ala Arg Asp Trp Pro Tyr Ser Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 1 5 10 15
 Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Gly Gln Ala Gly Gln His His His His
 20 25 30
 His His Gly Ala Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala Ser
 35 40 45

<210> 115
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LC-FR1 35

<400> 115
 Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln Lys Val
 1 5 10 15
 Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser
 20

<210> 116
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LC-FR2 35

<400> 116
 Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 1 5 10 15
 Tyr

<210> 117
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> LC-FR2 35-14

<400> 117

Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu	Pro	Gly	Thr	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Ile
1				5					10					15	
Tyr															

<210> 118

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> LC-FR2 35-18

<400> 118

Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu	Pro	Gly	Ala	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
1				5					10					15	
Tyr															

<210> 119

<211> 36

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> LC-FR3 35

<400> 119

Lys	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Lys	Ser	Gly
1				5					10					15	
Thr	Ser	Ala	Thr	Leu	Gly	Ile	Thr	Gly	Leu	Gln	Thr	Gly	Asp	Glu	Ala
			20					25					30		
Asp	Tyr	Tyr	Cys												
			35												

<210> 120

<211> 36

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> LC-FR3 35-2

<400> 120

Glu	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Lys	Ser	Gly
1				5					10					15	
Thr	Ser	Ala	Thr	Leu	Gly	Ile	Thr	Gly	Leu	Gln	Thr	Gly	Asp	Glu	Ala
			20					25					30		
Asp	Tyr	Tyr	Cys												

35

<210> 121
<211> 36
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-FR3 35-3

<400> 121
Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly
1 5 10 15
Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Arg Thr Gly Asp Glu Ala
20 25 30
Asp Tyr Tyr Cys
35

<210> 122
<211> 36
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-FR3 35-12

<400> 122
Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly
1 5 10 15
Thr Ser Thr Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln Thr Gly Asp Glu Ala
20 25 30
Asp Tyr Tyr Cys
35

<210> 123
<211> 36
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-FR3 35-15

<400> 123
Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Ala Ser Lys Ser Gly
1 5 10 15
Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln Thr Arg Asp Glu Ala
20 25 30
Asp Tyr Tyr Cys
35

<210> 124

<211> 36
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LC-FR3 35-16

<400> 124
 Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly
 1 5 10 15
 Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln Thr Gly Asp Glu Ala
 20 25 30
 Asp Tyr Tyr Cys
 35

<210> 125
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LC-FR3 35-19

<400> 125
 Met Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly
 1 5 10 15
 Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln Thr Gly Asp Glu Ala
 20 25 30
 Asp Tyr Tyr Cys
 35

<210> 126
 <211> 44
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LC-FR4 35

<400> 126
 Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ala Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr
 1 5 10 15
 Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 20 25 30
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Met Ala Gln
 35 40

<210> 127
 <211> 43
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> LC-FR4 35-3

<400> 127

Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ala Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr
 1 5 10 15
 Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 20 25 30
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Met Ala Gln
 35 40

<210> 128

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> ESO 157同系物1

<400> 128

Ser Leu Leu Cys Asp Asn Gly Gln Cys
 1 5

<210> 129

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> ESO 157同系物2

<400> 129

Ser Leu Leu Pro Glu Leu Val Gln Cys
 1 5

<210> 130

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> ESO 157同系物3

<400> 130

Ser Leu Leu Ser Ala Asn Glu Gln Cys
 1 5

<210> 131

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> ESO 157同系物4

<400> 131

Ser Leu Leu Ser Glu Ser Glu Gln Cys
1 5

<210> 132

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> ESO 157同系物5

<400> 132

Ser Leu Leu Thr Glu Ser Glu Gln Cys
1 5

<210> 133

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> C3對照肽(A2E-7)

<400> 133

Tyr Leu Leu Pro Ala Ile Val His Ile
1 5

<210> 134

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> A2E-1

<400> 134

Leu Leu Asp Val Pro Thr Ala Ala Val
1 5

<210> 135

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> A2E-2

<400> 135
 Thr Leu Trp Val Asp Pro Tyr Glu Val
 1 5

<210> 136
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <223> A2E-3

<400> 136
 Phe Leu Leu Asp His Leu Lys Arg Val
 1 5

<210> 137
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <223> A2E-4

<400> 137
 Leu Leu Leu Asp Val Pro Thr Ala Ala Val
 1 5 10

<210> 138
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <223> A2E-5

<400> 138
 Val Leu Phe Arg Gly Gly Pro Arg Gly Leu Leu Ala Val
 1 5 10

<210> 139
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <223> A2E-6

<400> 139
 Ser Leu Leu Pro Ala Ile Val Glu Leu

1 5

<210> 140
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> A2E-8

<400> 140
Phe Leu Leu Pro Thr Gly Ala Glu Ala
1 5

<210> 141
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> A2E-9

<400> 141
Leu Leu Asp Pro Lys Leu Cys Tyr Leu Leu
1 5 10

<210> 142
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> A2E-11

<400> 142
Met Leu Leu Ser Val Pro Leu Leu Leu Gly
1 5 10

<210> 143
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> A2E-17

<400> 143
Met Val Asp Gly Thr Leu Leu Leu Leu
1 5

<210> 144
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <223> DMTN對照

<400> 144
 Ser Leu Pro His Phe His His Pro Glu Thr
 1 5 10

<210> 145
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <223> PIM1對照

<400> 145
 Leu Leu Tyr Asp Met Val Cys Gly Asp Ile Pro
 1 5 10

<210> 146
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <223> IFI30對照

<400> 146
 Leu Leu Leu Asp Val Pro Thr Ala Ala Val Gln
 1 5 10

<210> 147
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <223> IFI30對照

<400> 147
 Leu Leu Leu Asp Val Pro Thr Ala Ala Val Gln Ala
 1 5 10

<210> 148
 <211> 14
 <212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> SSR1對照

<400> 148

Val Leu Phe Arg Gly Gly Pro Arg Gly Leu Leu Ala Val Ala
1 5 10

<210> 149

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> RPS6KB1對照

<400> 149

Tyr Met Ala Pro Glu Ile Leu Met Arg Ser
1 5 10

<210> 150

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> CSF2RA對照

<400> 150

Phe Ile Tyr Asn Ala Asp Leu Met Asn Cys
1 5 10

<210> 151

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> IL7對照

<400> 151

Lys Gln Tyr Glu Ser Val Leu Met Val Ser Ile
1 5 10

<210> 152

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> β球蛋白對照

<400> 152

Lys	Val	Asn	Val	Asp	Glu	Val	Gly	Gly	Glu
1				5					10

申請專利範圍

1. 一種經分離抗EMC構築體，其包含特異性結合於包含NY-ESO-1肽及主要組織相容性(MHC) I類蛋白質之複合體(NY-ESO-1/MHC I類複合體，或EMC)的抗體部分。
2. 如請求項1之經分離抗EMC構築體，其中該MHC I類蛋白質為HLA-A02對偶基因之HLA-A*02:01亞型。
3. 如請求項1或2之經分離抗EMC構築體，其中該NY-ESO-1肽具有選自由SEQ ID NO: 3-14組成之群的胺基酸序列。
4. 如請求項3之經分離抗EMC構築體，其中該NY-ESO-1肽具有SLLMWITQC (SEQ ID NO: 4)之胺基酸序列。
5. 如請求項1至4中任一項之經分離抗EMC構築體，其中該抗體部分為全長抗體、Fab、Fab'、(Fab')₂、Fv或單鏈Fv(scFv)。
6. 如請求項1至5中任一項之經分離抗EMC構築體，其中該經分離抗EMC構築體以約0.1 pM至約500 nM之K_d結合至該NY-ESO-1/MHC I類複合體。
7. 如請求項1至6中任一項之經分離抗EMC構築體，其中該抗體部分包含：

i)重鏈可變域，其包含重鏈互補決定區(HC-CDR) 1，該HC-CDR1包含胺基酸序列G-G/Y-T-F-S/T-S-Y-A/G (SEQ ID NO: 95)，或包含至多約3個胺基酸取代之其變異體，HC-CDR2，該HC-CDR2包含胺基酸序列I-I-P-I-F/L-G-T-A或I-S-A-X-X-G-X-T (SEQ ID NO: 96或97)，或包含至多約3個胺基酸取代之其變異體，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含胺基酸序列A-R-Y-X-X-Y (SEQ ID NO: 98)，或包含至多約3個胺基酸取代之其變異體；及

ii)輕鏈可變域，其包含輕鏈互補決定區(LC-CDR) 1，該LC-

CDR1包含胺基酸序列S-S-N-I-G-A/N-G/N-Y (SEQ ID NO: 99)，或包含至多約3個胺基酸取代之其變異體，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含胺基酸序列G/Q-S/T-W/Y-D-S/T-S-L-S/T-A/G-W/Y-V (SEQ ID NO: 100)，或包含至多約3個胺基酸取代之其變異體，其中X可為任何胺基酸。

8. 如請求項1至6中任一項之經分離抗EMC構築體，其中該抗體部分包含：

i)重鏈可變域，其包含HC-CDR1，該HC-CDR1包含SEQ ID NO: 51-59中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5個胺基酸取代之其變異體，HC-CDR2，該HC-CDR2包含SEQ ID NO: 60-66中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5個胺基酸取代之其變異體，及HC-CDR3，該HC-CDR3包含SEQ ID NO: 67-76中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5個胺基酸取代之其變異體；及

ii)輕鏈可變域，其包含LC-CDR1，該LC-CDR1包含SEQ ID NO: 77-82中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5個胺基酸取代之其變異體，LC-CDR2，該LC-CDR2包含SEQ ID NO: 83-87中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約3個胺基酸取代之其變異體，及LC-CDR3，該LC-CDR3包含SEQ ID NO: 88-94中的任一者之胺基酸序列，或包含至多約5個胺基酸取代之其變異體。

9. 如請求項8之經分離抗EMC構築體，其中該抗體部分包含：a)重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 16-34中的任一者之胺基酸序列，或與SEQ ID NO: 16-34中的任一者具有至少約95%序列一致性之其變異體；及b)輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 36-50中的任一者之胺基酸序列，或與SEQ ID NO: 36-50中的任一者具有至少約95%序列一致性之其變異體。

10. 如請求項1至9中任一項之經分離抗EMC構築體，其中該經分離抗EMC構築體為多特異性的。
11. 如請求項10之經分離抗EMC構築體，其中該經分離抗EMC構築體為串聯scFv、雙功能抗體(Db)、單鏈雙功能抗體(scDb)、雙親和力再靶向(DART)抗體、雙可變域(DVD)抗體、杵-臼(knob-into-hole; KiH)抗體、塢鎖(dock and lock; DNL)抗體、化學交聯抗體、雜多聚體抗體或異結合物抗體。
12. 如請求項11之經分離抗EMC構築體，其中該經分離抗EMC構築體為包含兩個藉由肽連接子連接之scFv之串聯scFv。
13. 如請求項10至12中任一項之經分離抗EMC構築體，其中該經分離抗EMC構築體進一步包含特異性結合於第二抗原之第二抗體部分。
14. 如請求項13之經分離抗EMC構築體，其中該第二抗原選自由以下組成之群：CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD28、OX40、GITR、CD137、CD27、CD40L及HVEM。
15. 如請求項13之經分離抗EMC構築體，其中該第二抗原為CD3 ϵ ，且其中該經分離抗EMC構築體為包含對該NY-ESO-1/MHC I類複合體具有特異性之N端scFv及對CD3 ϵ 具有特異性之C端scFv的串聯scFv。
16. 如請求項1至9中任一項之經分離抗EMC構築體，其中該經分離抗EMC構築體為嵌合抗原受體，其包含含該抗體部分之細胞外域、跨膜域及包含CD3 ζ 胞內信號傳導序列及CD28胞內信號傳導序列之胞內信號傳導域。
17. 如請求項1至9中任一項之經分離抗EMC構築體，其中該經分離抗EMC構築體為包含該抗體部分及效應分子之免疫結合物，其中該效應分子為選自由以下組成之群的治療劑：藥物、毒素、

放射性同位素、蛋白質、肽及核酸。

18. 如請求項1至9中任一項之經分離抗EMC構築體，其中該經分離抗EMC構築體為包含該抗體部分及標記之免疫結合物。
19. 一種醫藥組合物，其包含如請求項1至17中任一項之經分離抗EMC構築體。
20. 一種宿主細胞，其表現如請求項1至18中任一項之經分離抗EMC構築體。
21. 一種核酸，其編碼如請求項1至18中任一項之經分離抗EMC構築體之多肽組分。
22. 一種效應細胞，其表現如請求項16之經分離抗EMC構築體。
23. 如請求項46之效應細胞，其中該效應細胞為T細胞。
24. 一種偵測在表面上呈遞包含NY-ESO-1肽及MHC I類蛋白質之複合體的細胞的方法，其包含使該細胞與如請求項18之經分離抗EMC構築體接觸及偵測該細胞上之該標記之存在。
25. 一種治療患有NY-ESO-1陽性疾病之個體之方法，其包含向該個體投與：
 - a)有效量的如請求項19之醫藥組合物；或
 - b)有效量的如請求項22或23之效應細胞。
26. 一種診斷患有NY-ESO-1陽性疾病之個體之方法，其包含：
 - a)向該個體投與有效量的如請求項18之經分離抗EMC構築體；及
 - b)測定該個體中之該標記之含量，其中該標記之含量高於臨限值含量指示該個體患有該NY-ESO-1陽性疾病。
27. 一種診斷患有NY-ESO-1陽性疾病之個體之方法，其包含：
 - a)使來源於該個體之樣品與如請求項18之經分離抗EMC構築體接觸；及

b)測定該樣品中與該經分離抗EMC構築體結合之細胞之數量，其中與該經分離抗EMC構築體結合之細胞之數量值高於臨限值含量指示該個體患有該NY-ESO-1陽性疾病。

28. 如請求項25至27中任一項之方法，其中該NY-ESO-1陽性疾病為NY-ESO-1陽性癌症。
29. 如請求項28之方法，其中該NY-ESO-1陽性癌症為膀胱癌、乳癌、食道癌、肝細胞癌、頭頸癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、非小細胞肺癌(NSCLC)、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤或甲狀腺癌。

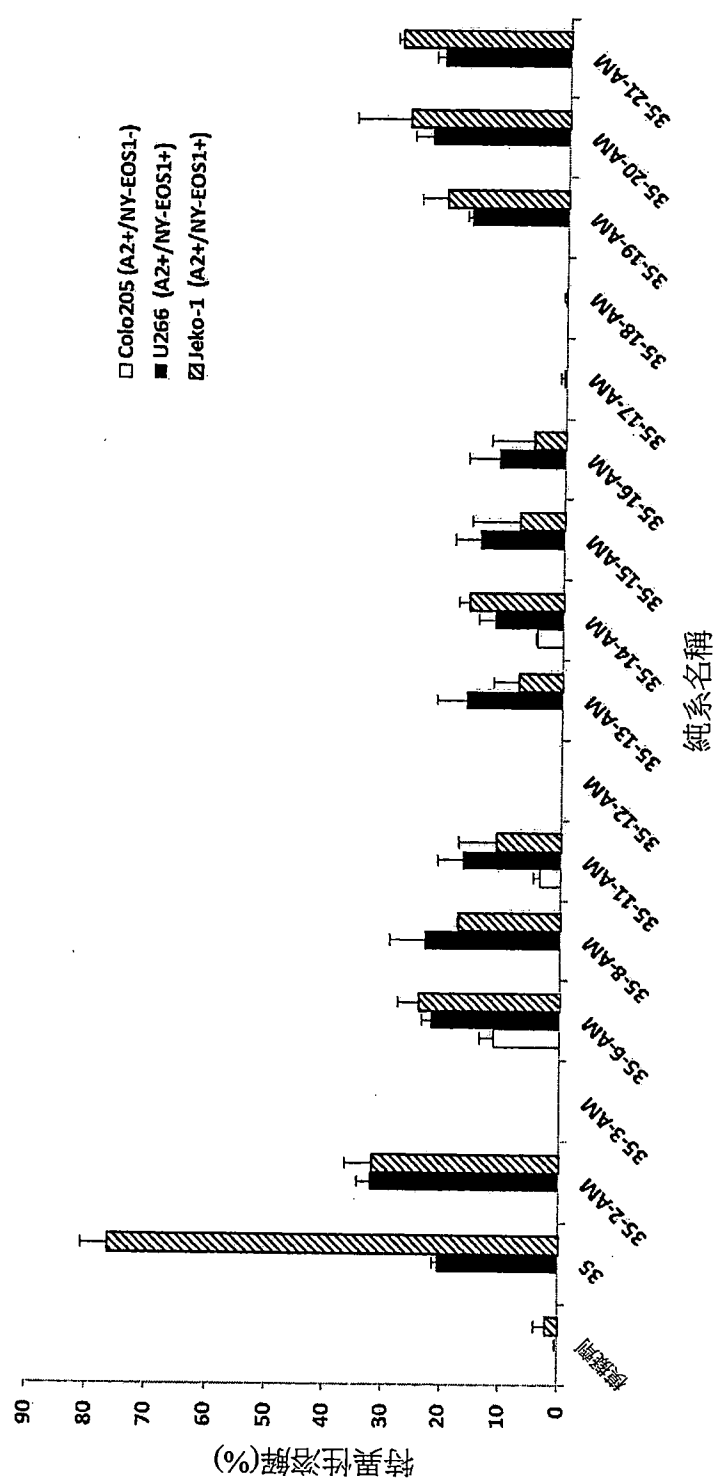


圖8

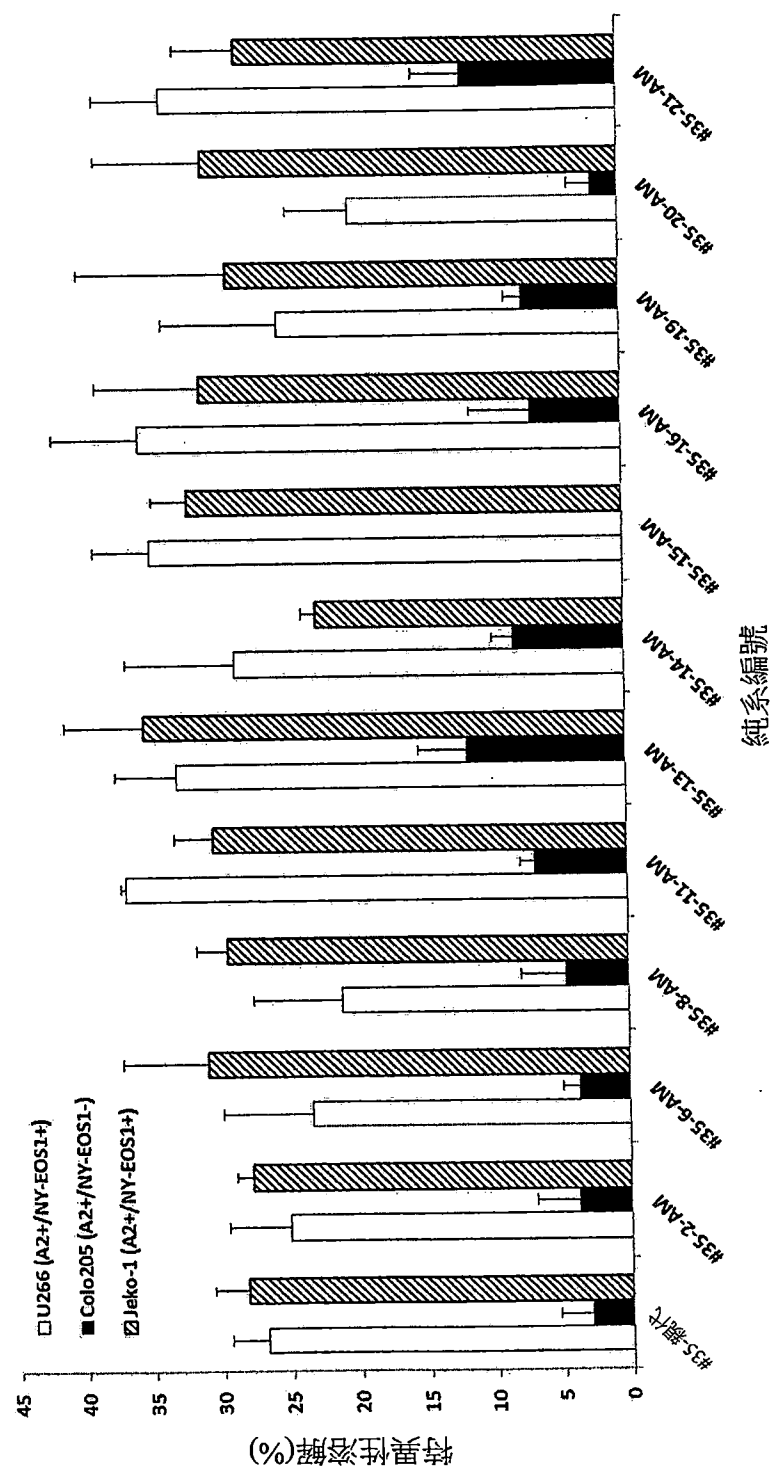


圖6

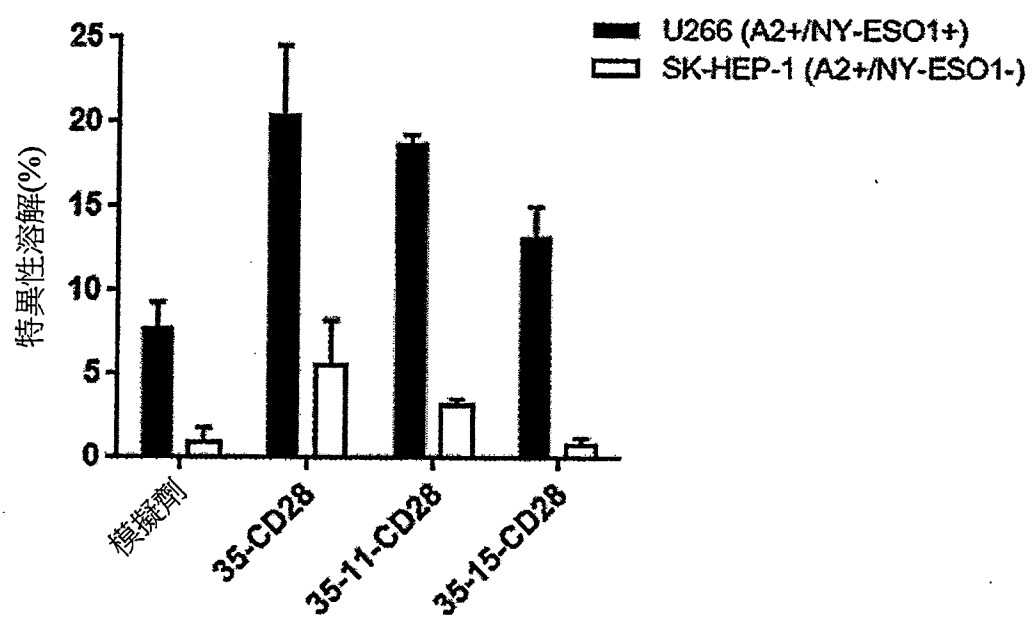


圖10

A*02:07	1.1%	26.1%	0.4%	0.4%	0.0%	0.0%	32.7%	2.4%
A*02:08	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
A*02:09	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
A*02:10	0.0%	1.1%	0.0%	0.0%	0.0%	0.2%	0.0%	0.1%
A*02:11	0.0%	0.1%	0.1%	22.3%	0.0%	1.5%	0.0%	1.7%
其他A02亞型 (A*02:12- A*02:93)	0.0%	0.7%	0.8%	0.9%	0.5%	0.5%	0.0%	0.6%
	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%

表10

HLA亞型	#35 K _D (nM)	#52 K _D (nM)	#66 K _D (nM)	#76 K _D (nM)	#116 K _D (nM)	#146 K _D (nM)	#148 K _D (nM)
A0202	22	63	25	34	1.8	-	19
A0203	50	82	47	47	-	-	85
A0205	-	26	33	40	-	-	18
A0206	78	140	58	126	0.8	-	224
A0207	-	-	-	-	-	-	-
A0211	-	-	48	97	-	-	-

藉由癌細胞株之T細胞殺死分析

腫瘤細胞毒性藉由LDH細胞毒性分析(Promega)來分析。購自AllCells之人類T細胞藉由CD3/CD28戴諾珠粒(Invitrogen)根據製造商方案活化及擴增。活化T細胞(ATC)在具有10% FBS加上30 U/ml IL-2之RPMI1640培養基中培養及維持，且在第7-14天使用。根據FACS分析，T細胞為>99% CD3⁺。活化T細胞(效應細胞)及靶細胞在5:1比率下在不同BsAb濃度下共培養16小時。細胞毒性接著藉由在培養物上清液中量測LDH活性而測定。

NY-ESO-1 BsAb以ESO157及HLA-A*02:01依賴性方式殺死癌細胞。測試三個癌細胞株。IM9為埃巴二氏病毒(EspsteinBarr virus)轉型之B細胞淋巴母細胞細胞株。U266為另一B細胞淋巴母細胞細胞株。Colo205來源於結腸直腸腺癌。IM9及U266均為HLA-A*02:01陽性及NY-ESO-1陽性的。此兩種細胞株以劑量依賴性方式藉由經NY-ESO-1 BsAb再導引之T細胞有效地殺死。Colo205為NY-ESO-1陰性的，且不在相同實驗條件下相同有效地殺死(圖5)。

藉由肽脈衝T2細胞之T細胞殺死分析

肽/MHC複合體特異性細胞毒性可藉由LDH細胞毒性分析(Promega)來分析。舉例而言，購自AllCells之人類T細胞藉由CD3/CD28戴諾珠粒(Invitrogen)根據製造商方案活化及擴增。活化T細胞(ATC)在具有10% FBS加上30 U/ml IL-2之RPMI1640培養基中培養及維持，且在第7-14天使用。活化T細胞(效應細胞)及靶標肽負載之T2細胞在5:1比率下在1 µg/ml或0.2 µg/ml BsAb下共培養16小時。肽負載之T2細胞藉由用50 µg/ml標靶NY-ESO-1 157-165肽(SLLMWITQC，SEQ ID NO: 4)或陰性對照肽，如AFP158肽(FMNKFIYEI，SEQ ID NO:153)培育T2細胞隔夜製備。視情況包括陰性對照BsAb，如AFP158/HLA-A*02:01特異性BsAb。細胞毒性藉由在培養物上清液中量測LDH活性而測定。

實例6.產生NY-ESO-1/HLA-A*02:01特異性嵌合抗原受體呈遞T細胞(CAR-T)

嵌合抗原受體療法(CAR-T療法)為靶向免疫療法之新穎形式。其合併單株抗體之精緻靶向特異性與藉由細胞毒性T細胞提供之強力細胞毒性及長期持久性。此技術使得T細胞能夠獨立於內源性TCR採集長期新穎抗原特異性。臨床試驗已在神經母細胞瘤(Louis C.U.等人, *Blood* 118(23):6050-6056)、B-ALL (Maude S.L.等人, *N. Engl. J. Med.* 371(16):1507-1517, 2014)、CLL (Brentjens R.J. 等人, *Blood* 118(18):4817-4828, 2011)及B細胞淋巴瘤(Kochenderfer J.N. 等人, *Blood* 116(20):4099-4102, 2010)中顯示CAR-T療法之臨床顯著抗腫瘤活性。在一個研究中，報導用CD19-CAR T療法治療之30位患有B-ALL之患者中之90%完全緩解率(Maude S.L.等人, 前述)。

為了進一步探究NY-ESO-1/HLA-A*02:01特異性抗體之效能，構築NY-ESO-1 scFv表現CAR且轉導至T細胞中。舉例而言，使用慢病毒CAR表現載體構築NY-ESO-1/HLA-A*02:01特異性CAR。抗NY-ESO-

【序列表】

<110> 美商優瑞科醫療公司

<120> 靶向NY-ESO-1肽/MHC複合體之構築體及其用途

<130> 750042000441

<140> TW 105120097

<141> 2016-06-24

<150> 62/184,185

<151> 2015-06-24

<160> 153

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 180

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> NY-ESO-1蛋白質

<400> 1

```

Met Gln Ala Glu Gly Arg Gly Thr Gly Gly Ser Thr Gly Asp Ala Asp
 1          5          10          15
Gly Pro Gly Gly Pro Gly Ile Pro Asp Gly Pro Gly Gly Asn Ala Gly
 20          25          30
Gly Pro Gly Glu Ala Gly Ala Thr Gly Gly Arg Gly Pro Arg Gly Ala
 35          40          45
Gly Ala Ala Arg Ala Ser Gly Pro Gly Gly Gly Ala Pro Arg Gly Pro
 50          55          60
His Gly Gly Ala Ala Ser Gly Leu Asn Gly Cys Cys Arg Cys Gly Ala
 65          70          75          80
Arg Gly Pro Glu Ser Arg Leu Leu Glu Phe Tyr Leu Ala Met Pro Phe
 85          90          95
Ala Thr Pro Met Glu Ala Glu Leu Ala Arg Arg Ser Leu Ala Gln Asp
100          105          110
Ala Pro Pro Leu Pro Val Pro Gly Val Leu Leu Lys Glu Phe Thr Val
115          120          125
Ser Gly Asn Ile Leu Thr Ile Arg Leu Thr Ala Ala Asp His Arg Gln
130          135          140
Leu Gln Leu Ser Ile Ser Cys Leu Gln Gln Leu Ser Leu Leu Met
145          150          155          160
Trp Ile Thr Gln Cys Phe Leu Pro Val Phe Leu Ala Gln Pro Pro Ser
165          170          175
Gly Gln Arg Arg
    
```

180

<210> 2
<211> 543
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<223> NY-ESO-1 CDS

<400> 2
atgcaggccg aaggccgggg cacagggggt tcgacgggcg atgctgatgg cccaggaggc 60
cctggcattc ctgatggccc aggggggcaat gctggcggcc caggagaggc ggggtgccacg 120
ggcggcagag gtccccgggg cgcaggggca gcaagggcc tggggccggg aggaggcgcc 180
ccgcggggtc cgcattggcg cgcggcttca gggctgaatg gatgctgcag atgcggggcc 240
agggggccgg agagccgcct gcttgagttc tacctcgcca tgcctttcgc gacacccatg 300
gaagcagagc tggcccgcag gagcctggcc caggatgccc caccgcttcc cgtgccaggg 360
gtgcttctga aggagttcac tgtgtccggc aacatactga ctatccgact gactgctgca 420
gaccaccgcc aactgcagct ctccatcagc tcctgtctcc agcagcttcc cctgttgatg 480
tggatcacgc agtgctttct gcccggtgtt ttggctcagc ctccctcagg gcagaggcgc 540
taa 543

<210> 3
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> NY-ESO-1 155-163

<400> 3
Gln Leu Ser Leu Leu Met Trp Ile Thr
1 5

<210> 4
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> NY-ESO-1 157-165

<400> 4
Ser Leu Leu Met Trp Ile Thr Gln Cys
1 5

<210> 5
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<220>

<223> NY-ESO-1 157-167

<400> 5

Ser Leu Leu Met Trp Ile Thr Gln Cys Phe Leu
1 5 10

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> NY-ESO-1 157-165 C9V突變體

<400> 6

Ser Leu Leu Met Trp Ile Thr Gln Val
1 5

<210> 7

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> NY-ESO-1 157-165 A1

<400> 7

Ala Leu Leu Met Trp Ile Thr Gln Cys
1 5

<210> 8

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> NY-ESO-1 157-165 A2

<400> 8

Ser Ala Leu Met Trp Ile Thr Gln Cys
1 5

<210> 9

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> NY-ESO-1 157-165 A3

<400> 9

201713701

Ser Leu Ala Met Trp Ile Thr Gln Cys
1 5

<210> 10
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> NY-ESO-1 157-165 A4

<400> 10
Ser Leu Leu Ala Trp Ile Thr Gln Cys
1 5

<210> 11
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> NY-ESO-1 157-165 A5

<400> 11
Ser Leu Leu Met Ala Ile Thr Gln Cys
1 5

<210> 12
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> NY-ESO-1 157-165 A6

<400> 12
Ser Leu Leu Met Trp Ala Thr Gln Cys
1 5

<210> 13
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> NY-ESO-1 157-165 A7

<400> 13
Ser Leu Leu Met Trp Ile Ala Gln Cys
1 5

<210> 14
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> NY-ESO-1 157-165 A8

<400> 14
Ser Leu Leu Met Trp Ile Thr Ala Cys
1 5

<210> 15
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> HCVR 35

<400> 15
cagggtgcagc tgggtgcaatc tggagctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggctc 60
tcctgcaagg cttctggaga caccttcagc agttattcta tcagttgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag gccttgagtg gatgggaagg atcatcccta tccttgggtat tgcaaaactac 180
gcacagaagt accagggcag agtcacccit agcgcggaca aatccacgag tacctcctac 240
atggagctga acagcctgag atctgaggac acggccgtat attactgtgc gcgcgactgg 300
tccttactcta tcgattactg gggtaaggt actctggtga ccgtctcctc a 351

<210> 16
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HCVR 35

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

<210> 17
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HCVR 52

<400> 17
 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 Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Tyr Ser Gly Tyr Tyr Ala Gly Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 18
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HCVR 66

<400> 18
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys Arg Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Arg Phe Ile Pro Asn Leu Asn Lys Gly Asn Ser Ala His Lys Phe
 50 55 60
 Glu Gly Arg Val Ser Phe Thr Ala Asp Lys Phe Thr Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Arg Gly Leu Lys Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Asp Tyr Gly Ser Asp Gln Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115

<210> 19
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HCVR 76

<400> 19
Glu 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 Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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 Tyr Asp Ser Tyr Val Tyr Asp Glu Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 20
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HCVR 116

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

<210> 21
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HCVR 146

<400> 21
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Asp Leu
20 25 30
Pro Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Phe Asp Pro Glu Asp Gly Glu Ile Ile Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Phe Thr Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Val Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Tyr Val Pro Tyr Val Ser Tyr Ser Asp Ser Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 22
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HCVR 148

<400> 22
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln 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 Ser Tyr Trp Ser Trp Thr Pro Tyr Asp Pro Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 23

<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HCVR 35-2

<400> 23
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 Asp Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Tyr Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Tyr
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Leu Ser Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ser Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Trp Ser Tyr Ser Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 24
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HCVR 35-3

<400> 24
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 Asp Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Tyr Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Tyr
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Leu Ser Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ser Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Glu Trp Ser Tyr Ser Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 25
<211> 117

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HCVR 35-4

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

<210> 26
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HCVR 35-6

<400> 26
Gln Ala 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 Asp Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Tyr Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Tyr
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Leu Ser Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ser Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Trp Ser Tyr Ser Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 27
<211> 117
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HCVR 35-8

<400> 27

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

<210> 28

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HCVR 35-12

<400> 28

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

<210> 29

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HCVR 35-15

<400> 29

```

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

<210> 30

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HCVR 35-16

<400> 30

```

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

<210> 31

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HCVR 35-17

<400> 31

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

<210> 32

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HCVR 35-19

<400> 32

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

<210> 33

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HCVR 35-20

<400> 33

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

<210> 34

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HCVR 35-21

<400> 34

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

<210> 35

<211> 333

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> LCVR 35

<400> 35
cagtctgtcg tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60
tcctgctctg gaagcagctc caacattggg aataattatg tatcctggta ccagcagctc 120
ccaggaacag cccccaact cctcatttat gacaataata agcgaccctc agggattcct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tgggcatcac cggactccag 240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata gcagcctgag tgcttgggtg 300
ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta ggt 333

<210> 36
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LCVR 35

<400> 36
Gln Ser Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15
Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
20 25 30
Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80
Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu
85 90 95
Ser Ala Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 37
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LCVR 52

<400> 37
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
20 25 30
Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Leu Ile Tyr Gly Asp Thr Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Ile
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Asn
85 90 95

Leu Tyr Thr Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 38
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LCVR 66

<400> 38
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
20 25 30
Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser
85 90 95
Leu Ser Gly Ser Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110
Gly

<210> 39
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LCVR 76

<400> 39
Gln Ser Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Leu Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Asn Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Gly
20 25 30
Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser
85 90 95
Leu Ser Gly Trp Gly Ile Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110
Gly

<210> 40
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LCVR 116

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

<210> 41
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LCVR 146

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

<210> 42
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LCVR 148

<400> 42
Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
1 5 10 15
Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45
Tyr Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
85 90 95
Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
100 105

<210> 43
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LCVR 35-2

<400> 43
Gln Ser Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15
Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
20 25 30
Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Asp Asn Asn Glu Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80
Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu
85 90 95
Ser Ala Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 44
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LCVR 35-3

<400> 44
Gln Ser Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15
Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
20 25 30
Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Arg
65 70 75 80
Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu
85 90 95
Ser Ala Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 45
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LCVR 35-12

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

<210> 46
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LCVR 35-14

<400> 46
Gln Ser Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln

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

<210> 47
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LCVR 35-15

<400> 47															
Gln	Ser	Val	Val	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Val	Ser	Ala	Ala	Pro	Gly	Gln
1				5				10					15		
Lys	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Ser	Gly	Ser	Ser	Ser	Asn	Ile	Gly	Asn	Asn
			20					25					30		
Tyr	Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu	Pro	Gly	Thr	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu
		35					40					45			
Ile	Tyr	Asp	Asn	Asn	Lys	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser
	50					55				60					
Ala	Ser	Lys	Ser	Gly	Thr	Ser	Ala	Thr	Leu	Gly	Ile	Thr	Gly	Leu	Gln
65					70				75					80	
Thr	Arg	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gly	Thr	Trp	Asp	Ser	Ser	Leu
				85				90					95		
Ser	Ala	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	
			100					105					110		

<210> 48
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LCVR 35-16

<400> 48															
Gln	Ser	Val	Val	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Val	Ser	Ala	Ala	Pro	Gly	Gln
1				5				10					15		
Lys	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Ser	Gly	Ser	Ser	Ser	Asn	Ile	Gly	Asn	Asn
			20					25					30		
Tyr	Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu	Pro	Gly	Thr	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu
		35					40					45			

Ile	Tyr	Asp	Asn	Asn	Lys	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Gly	Arg	Phe	Ser
50						55				60					
Gly	Ser	Lys	Ser	Gly	Thr	Ser	Ala	Thr	Leu	Gly	Ile	Thr	Gly	Leu	Gln
65					70				75						80
Thr	Gly	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gly	Thr	Trp	Asp	Ser	Ser	Leu
				85					90					95	
Ser	Ala	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	
			100					105					110		

<210> 49
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LCVR 35-18

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

<210> 50
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LCVR 35-19

Gln	Ser	Val	Val	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Val	Ser	Ala	Ala	Pro	Gly	Gln
1				5					10					15	
Lys	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Ser	Gly	Ser	Ile	Ser	Asn	Ile	Gly	Asn	Asn
			20					25					30		
Tyr	Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu	Pro	Gly	Thr	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu
		35					40					45			
Ile	Tyr	Asp	Asn	Asn	Met	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser
50						55				60					
Gly	Ser	Lys	Ser	Gly	Thr	Ser	Ala	Thr	Leu	Gly	Ile	Thr	Gly	Leu	Gln
65					70				75						80
Thr	Gly	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gly	Thr	Trp	Asp	Ser	Ser	Leu

Ser	Ala	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly
			100	85				105	90				110	95

<210> 51
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HC-CDR1 35

<400> 51
 Gly Asp Thr Phe Ser Ser Tyr Ser
 1 5

<210> 52
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HC-CDR1 52

<400> 52
 Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Gly
 1 5

<210> 53
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HC-CDR1 76

<400> 53
 Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
 1 5

<210> 54
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HC-CDR1 116

<400> 54
 Gly Tyr Thr Phe Thr Lys Tyr Gly
 1 5

<210> 55
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-CDR1 146

<400> 55
Gly Tyr Thr Leu Thr Asp Leu Pro
1 5

<210> 56
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-CDR1 35-2

<400> 56
Gly Asp Thr Phe Ser Ser Tyr Tyr
1 5

<210> 57
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-CDR1 35-4

<400> 57
Glu Asp Thr Phe Ser Ser Tyr Tyr
1 5

<210> 58
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-CDR1 35-12

<400> 58
Gly Asp Thr Phe Ser Asn Tyr Ser
1 5

<210> 59

<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-CDR1 35-21

<400> 59
Ala Asp Thr Phe Ser Ser Tyr Tyr
1 5

<210> 60
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-CDR2 35

<400> 60
Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ile Ala
1 5

<210> 61
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-CDR2 52

<400> 61
Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr
1 5

<210> 62
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-CDR2 66

<400> 62
Phe Ile Pro Asn Leu Asn Lys Gly
1 5

<210> 63
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-CDR2 76

<400> 63
Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala
1 5

<210> 64
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-CDR2 116

<400> 64
Ile Ser Ala Asp Ser Gly Lys Thr
1 5

<210> 65
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-CDR2 146

<400> 65
Phe Asp Pro Glu Asp Gly Glu Ile
1 5

<210> 66
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-CDR2 35-16

<400> 66
Ile Ile Pro Thr Leu Gly Ile Ala
1 5

<210> 67
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-CDR3 35

<400> 67

Ala Arg Asp Trp Ser Tyr Ser Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 68

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HC-CDR3 52

<400> 68

Ala Arg Tyr Ser Gly Tyr Tyr Ala Gly Asp Ser
1 5 10

<210> 69

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HC-CDR3 66

<400> 69

Ala Arg Gly Asp Tyr Gly Ser Asp Gln
1 5

<210> 70

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HC-CDR3 76

<400> 70

Ala Arg Tyr Asp Ser Tyr Val Tyr Asp Glu
1 5 10

<210> 71

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HC-CDR3 116

<400> 71

Ala Arg Asp Asp Asp Ser

1 5

<210> 72
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-CDR3 146

<400> 72
Ala Arg Tyr Val Pro Tyr Val Ser Tyr Ser Asp Ser
1 5 10

<210> 73
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-CDR3 148

<400> 73
Ala Arg Ser Tyr Trp Ser Trp Thr Pro Tyr Asp Pro
1 5 10

<210> 74
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-CDR3 35-3

<400> 74
Ala Arg Glu Trp Ser Tyr Ser Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 75
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-CDR3 35-15

<400> 75
Ala Leu Asp Trp Ser Tyr Ser Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 76
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-CDR3 35-17

<400> 76
Ala Arg Asp Trp Pro Tyr Ser Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 77
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-CDR1 35

<400> 77
Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr
1 5

<210> 78
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-CDR1 52

<400> 78
Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp
1 5

<210> 79
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-CDR1 76

<400> 79
Gly Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp
1 5

<210> 80
<211> 11
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> LC-CDR1 146

<400> 80

Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr
1 5 10

<210> 81

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> LC-CDR1 148

<400> 81

Asn Ile Gly Ser Lys Ser
1 5

<210> 82

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> LC-CDR1 35-19

<400> 82

Ile Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr
1 5

<210> 83

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> LC-CDR2 35

<400> 83

Asp Asn Asn
1

<210> 84

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> LC-CDR2 52

<400> 84
Gly Asp Thr
1

<210> 85
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-CDR2 66

<400> 85
Gly Asn Ser
1

<210> 86
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-CDR2 146

<400> 86
Leu Gly Ser
1

<210> 87
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-CDR2 148

<400> 87
Tyr Asp Ser
1

<210> 88
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-CDR3 35

<400> 88

Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ala Trp Val
1 5 10

<210> 89
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-CDR3 52

<400> 89
Gln Ser Tyr Asp Ser Asn Leu Tyr Thr Tyr Val
1 5 10

<210> 90
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-CDR3 66

<400> 90
Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Gly Ser Trp Val
1 5 10

<210> 91
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-CDR3 76

<400> 91
Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Gly Trp Gly Ile
1 5 10

<210> 92
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-CDR3 116

<400> 92
Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ala Glu Val
1 5 10

<210> 93
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-CDR3 146

<400> 93
Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 94
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-CDR3 148

<400> 94
Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His Tyr Val
1 5 10

<210> 95
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-CDR1共同序列

<220>
<221> VARIANT
<222> 2
<223> Xaa=G或Y

<220>
<221> VARIANT
<222> 5
<223> Xaa = S或T

<220>
<221> VARIANT
<222> 8
<223> Xaa = A或G

<400> 95
Gly Xaa Thr Phe Xaa Ser Tyr Xaa
1 5

<210>	96
<211>	8
<212>	PRT
<213>	人工序列

<220>
<223> HC-CDR2共同序列1

<220>
<221> VARIANT
<222> 5
<223> Xaa = F或L

<400> 96
Ile Ile Pro Ile Xaa Gly Thr Ala
1 5

<210>	97
<211>	8
<212>	PRT
<213>	人工序列

<220>
<223> HC-CDR2共同序列2

<220>
<221> VARIANT
<222> 4, 5, 7
<223> Xaa = 任何氨基酸

<400> 97
Ile Ser Ala Xaa Xaa Gly Xaa Thr
1 5

<210>	98
<211>	6
<212>	PRT
<213>	人工序列

<223> HC-CDR3共同序列

<220>
<221> VARIANT
<222> 4, 5
<223> Xaa = 任何氨基酸

<400> 98
Ala Arg Tyr Xaa Xaa Tyr
1 5

<210> 99

<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-CDR1共同序列

<220>
<221> VARIANT
<222> 6, 7
<223> Xaa = A或N

<220>
<221> VARIANT
<222> 7
<223> Xaa = G或N

<400> 99
Ser Ser Asn Ile Gly Xaa Xaa Tyr
1 5

<210> 100
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-CDR3共同序列

<220>
<221> VARIANT
<222> 1
<223> Xaa = G或Q

<220>
<221> VARIANT
<222> 2
<223> Xaa = S或T

<220>
<221> VARIANT
<222> 3
<223> Xaa = W或Y

<220>
<221> VARIANT
<222> 5
<223> Xaa = S或T

<220>
<221> VARIANT
<222> 8
<223> Xaa = S或T

<220>
<221> VARIANT
<222> 9
<223> Xaa = A或G

<220>
<221> VARIANT
<222> 10
<223> Xaa = W或Y

<400> 100
Xaa Xaa Xaa Asp Xaa Ser Leu Xaa Xaa Xaa Val
1 5 10

<210> 101
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-FR1 35

<400> 101
Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser Ser
1 5 10 15
Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser
20

<210> 102
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-FR1 35-6

<400> 102
Ala Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser Ser
1 5 10 15
Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser
20

<210> 103
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-FR1 35-8

<400> 103
Val Pro Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser Ser

1 5 10 15
Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser
20

<210> 104
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-FR1 35-12

<400> 104
Val Pro Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser Ser
1 5 10 15
Val Arg Val Ser Cys Lys Ala Ser
20

<210> 105
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-FR1 35-19

<400> 105
Glu Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser Ser
1 5 10 15
Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser
20

<210> 106
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-FR1 35-20

<400> 106
Val His Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser Ser
1 5 10 15
Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser
20

<210> 107
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-FR2 35

<400> 107
Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly
1 5 10 15
Arg

<210> 108
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-FR3 35

<400> 108
Asn Tyr Ala Gln Lys Tyr Gln Gly Arg Val Thr Leu Ser Ala Asp Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Thr Ser Tyr Met Glu Leu Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp
20 25 30
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
35

<210> 109
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-FR3 35-8

<400> 109
Asn Tyr Ala Gln Lys Tyr Gln Gly Arg Val Thr Leu Ser Ala Asp Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Thr Ser Tyr Met Glu Leu Asn Asn Leu Arg Ser Glu Asp
20 25 30
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
35

<210> 110
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-FR3 35-15

<400> 110
Asn Tyr Ala Gln Lys Tyr Gln Gly Arg Val Thr Leu Ser Ala Asp Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Thr Ser Tyr Met Glu Leu Asn Ser Leu Ser Ser Glu Asp
 20 25 30
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 35

<210> 111
 <211> 46
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HC-FR4 35

<400> 111
 Ala Arg Asp Trp Ser Tyr Ser Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 1 5 10 15
 Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Gly Gln Ala Gly Gln His His His His
 20 25 30
 His His Gly Ala Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala Ser
 35 40 45

<210> 112
 <211> 46
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HC-FR4 35-3

<400> 112
 Ala Arg Glu Trp Ser Tyr Ser Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 1 5 10 15
 Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Gly Gln Ala Gly Gln His His His His
 20 25 30
 His His Gly Ala Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala Ser
 35 40 45

<210> 113
 <211> 46
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HC-FR4 35-15

<400> 113
 Ala Leu Asp Trp Ser Tyr Ser Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 1 5 10 15
 Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Gly Gln Ala Gly Gln His His His His
 20 25 30
 His His Gly Ala Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala Ser
 35 40 45

<210> 114
<211> 46
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HC-FR4 35-17

<400> 114
Ala Arg Asp Trp Pro Tyr Ser Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
1 5 10 15
Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Gly Gln Ala Gly Gln His His His His
 20 25 30
His His Gly Ala Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala Ser
 35 40 45

<210> 115
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-FR1 35

<400> 115
Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln Lys Val
1 5 10 15
Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser
 20

<210> 116
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-FR2 35

<400> 116
Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile
1 5 10 15
Tyr

<210> 117
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> LC-FR2 35-14

<400> 117

Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu	Pro	Gly	Thr	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Ile
1				5					10				15		
Tyr															

<210> 118

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> LC-FR2 35-18

<400> 118

Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu	Pro	Gly	Ala	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
1				5					10				15		
Tyr															

<210> 119

<211> 36

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> LC-FR3 35

<400> 119

Lys	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Lys	Ser	Gly
1				5					10				15		
Thr	Ser	Ala	Thr	Leu	Gly	Ile	Thr	Gly	Leu	Gln	Thr	Gly	Asp	Glu	Ala
			20					25					30		
Asp	Tyr	Tyr	Cys												
			35												

<210> 120

<211> 36

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> LC-FR3 35-2

<400> 120

Glu	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Lys	Ser	Gly
1				5					10				15		
Thr	Ser	Ala	Thr	Leu	Gly	Ile	Thr	Gly	Leu	Gln	Thr	Gly	Asp	Glu	Ala
			20					25					30		
Asp	Tyr	Tyr	Cys												

35

<210> 121
<211> 36
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-FR3 35-3

<400> 121
Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly
1 5 10 15
Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Arg Thr Gly Asp Glu Ala
 20 25 30
Asp Tyr Tyr Cys
 35

<210> 122
<211> 36
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-FR3 35-12

<400> 122
Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly
1 5 10 15
Thr Ser Thr Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln Thr Gly Asp Glu Ala
 20 25 30
Asp Tyr Tyr Cys
 35

<210> 123
<211> 36
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-FR3 35-15

<400> 123
Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Ala Ser Lys Ser Gly
1 5 10 15
Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln Thr Arg Asp Glu Ala
 20 25 30
Asp Tyr Tyr Cys
 35

<210> 124

<211> 36
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-FR3 35-16

<400> 124
Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly
1 5 10 15
Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln Thr Gly Asp Glu Ala
20 25 30
Asp Tyr Tyr Cys
35

<210> 125
<211> 36
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-FR3 35-19

<400> 125
Met Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly
1 5 10 15
Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln Thr Gly Asp Glu Ala
20 25 30
Asp Tyr Tyr Cys
35

<210> 126
<211> 44
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-FR4 35

<400> 126
Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ala Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr
1 5 10 15
Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
20 25 30
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Met Ala Gln
35 40

<210> 127
<211> 43
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LC-FR4 35-3

<400> 127
Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ala Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr
1 5 10 15
Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
20 25 30
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Met Ala Gln
35 40

<210> 128
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ESO 157同系物1

<400> 128
Ser Leu Leu Cys Asp Asn Gly Gln Cys
1 5

<210> 129
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ESO 157同系物2

<400> 129
Ser Leu Leu Pro Glu Leu Val Gln Cys
1 5

<210> 130
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ESO 157同系物3

<400> 130
Ser Leu Leu Ser Ala Asn Glu Gln Cys
1 5

<210> 131
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> ESO 157同系物4

<400> 131

Ser Leu Leu Ser Glu Ser Glu Gln Cys
1 5

<210> 132

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> ESO 157同系物5

<400> 132

Ser Leu Leu Thr Glu Ser Glu Gln Cys
1 5

<210> 133

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> C3对照肽(A2E-7)

<400> 133

Tyr Leu Leu Pro Ala Ile Val His Ile
1 5

<210> 134

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> A2E-1

<400> 134

Leu Leu Asp Val Pro Thr Ala Ala Val
1 5

<210> 135

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> A2E-2

<400> 135
Thr Leu Trp Val Asp Pro Tyr Glu Val
1 5

<210> 136
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> A2E-3

<400> 136
Phe Leu Leu Asp His Leu Lys Arg Val
1 5

<210> 137
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> A2E-4

<400> 137
Leu Leu Leu Asp Val Pro Thr Ala Ala Val
1 5 10

<210> 138
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> A2E-5

<400> 138
Val Leu Phe Arg Gly Gly Pro Arg Gly Leu Leu Ala Val
1 5 10

<210> 139
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> A2E-6

<400> 139
Ser Leu Leu Pro Ala Ile Val Glu Leu

1

5

<210> 140

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> A2E-8

<400> 140

Phe Leu Leu Pro Thr Gly Ala Glu Ala

1 5

<210> 141

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> A2E-9

<400> 141

Leu Leu Asp Pro Lys Leu Cys Tyr Leu Leu

1 5 10

<210> 142

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> A2E-11

<400> 142

Met Leu Leu Ser Val Pro Leu Leu Leu Gly

1 5 10

<210> 143

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> A2E-17

<400> 143

Met Val Asp Gly Thr Leu Leu Leu Leu

1 5

<210> 144
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> DMTN對照

<400> 144
Ser Leu Pro His Phe His His Pro Glu Thr
1 5 10

<210> 145
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> PIM1對照

<400> 145
Leu Leu Tyr Asp Met Val Cys Gly Asp Ile Pro
1 5 10

<210> 146
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> IFI30對照

<400> 146
Leu Leu Leu Asp Val Pro Thr Ala Ala Val Gln
1 5 10

<210> 147
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> IFI30對照

<400> 147
Leu Leu Leu Asp Val Pro Thr Ala Ala Val Gln Ala
1 5 10

<210> 148
<211> 14
<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> SSR1對照

<400> 148

Val Leu Phe Arg Gly Gly Pro Arg Gly Leu Leu Ala Val Ala
1 5 10

<210> 149

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> RPS6KB1對照

<400> 149

Tyr Met Ala Pro Glu Ile Leu Met Arg Ser
1 5 10

<210> 150

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> CSF2RA對照

<400> 150

Phe Ile Tyr Asn Ala Asp Leu Met Asn Cys
1 5 10

<210> 151

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> IL7對照

<400> 151

Lys Gln Tyr Glu Ser Val Leu Met Val Ser Ile
1 5 10

<210> 152

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> β球蛋白對照

- <400> 152
- Lys Val Asn Val Asp Glu Val Gly Gly Glu
- 1 5 10
- <210> 153
- <211> 9
- <212> PRT
- <213> 智人

<220>
<223> AFP158 肽

<400> 153
Phe Met Asn Lys Phe Ile Tyr Glu Ile

● 1 5

