



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I855014 B

(45)公告日：中華民國 113 (2024) 年 09 月 11 日

(21)申請案號：108146802

(22)申請日：中華民國 108 (2019) 年 12 月 19 日

(51)Int. Cl. : C07K16/28 (2006.01) A61K39/395 (2006.01)

A61K47/68 (2017.01) A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2018/12/21 世界智慧財產權組織 PCT/CN2018/122572

(71)申請人：大陸商沐特圖公司 (中國大陸) MULTITUDE INC. (CN)

中國大陸

(72)發明人：侯冰 HOU, BING (CN)；成廣存 CHENG, GUANGCUN (CN)；張少飛 ZHANG, SHAOFEI (CN)；王娜 WANG, NA (CN)；劉淑惠 LIU, SHU-HUI (US)；孟遜 MENG, XUN (US)

(74)代理人：鄭志玲

(56)參考文獻：

WO 2017046776A2

審查人員：吳卓翰

申請專利範圍項數：13 項 圖式數：7 共 133 頁

(54)名稱

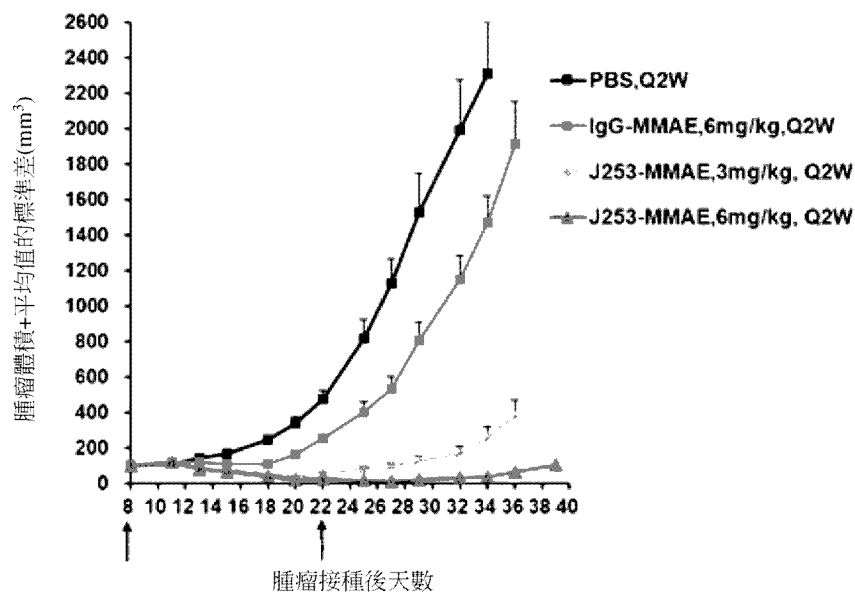
MUC18 特異性抗體

(57)摘要

MUC18 (又名 MCAM 或 CD146)特異性抗體及包含該抗體的抗體-藥物結合物(antibody-drug conjugates, ADCs)。本文還提供該抗 MUC18 抗體或 ADCs 用於治療及診斷目的之用途。

Antibodies specific to MUC18 (a.k.a.MCAM or CD146) and uses thereof for therapeutic and diagnostic purposes are provided. Also provided herein are chimeric antigen receptors (CARs) comprising an extracellular antigen-binding fragment that binds MUC18 and immune cells expressing such.

指定代表圖：



【圖4】



公告本

I855014

【發明摘要】

【中文發明名稱】 MUC18特異性抗體

【英文發明名稱】 ANTIBODIES SPECIFIC TO MUC18

【中文】

MUC18 (又名MCAM或CD146)特異性抗體及包含該抗體的抗體-藥物結合物(antibody-drug conjugates , ADCs)。本文還提供該抗MUC18抗體或ADCs用於治療及診斷目的之用途。

【英文】

Antibodies specific to MUC18 (*a.k.a.* MCAM or CD146) and uses thereof for therapeutic and diagnostic purposes are provided. Also provided herein are chimeric antigen receptors (CARs) comprising an extracellular antigen-binding fragment that binds MUC18 and immune cells expressing such.

【指定代表圖】 圖4

【代表圖之符號簡單說明】 無

【特徵化學式】 無

【發明說明書】

【中文發明名稱】 MUC18特異性抗體

【英文發明名稱】 ANTIBODIES SPECIFIC TO MUC18

【技術領域】

【0001】 本發明係關於MUC18特異性抗體及其應用。

【先前技術】

【0002】 MUC18，亦稱為CD146或黑色素瘤細胞黏附分子(melanoma cell adhesion molecule，MCAM)，為一種主要在細胞黏附中具有作用之跨膜醣蛋白。它在包括血管平滑肌在內的血管組織中的內皮細胞中以可檢測出的含量表現。值得注意的是，MUC18在人類惡性黑色素瘤中過度表現，具體而言是在轉移性病變以及晚期原發性腫瘤中。因此，開發有效的MUC18拮抗劑，例如用於癌症治療與診斷的抗MUC18抗體非常重要。

【發明內容】

【0003】 本發明至少部分係基於對MUC18具有特異性的多種抗體之開發。此類抗體顯示出對目標MUC18抗原的高結合親和力及/或對MUC18⁺細胞的高抑制活性。

【0004】 因此，本發明之一方面的特徵在於一種與MUC18結合的分離的抗體(抗MUC18抗體)，其中該抗體與作為參照抗體，即CL070336、CL070335、CL070333、CL070319、CL070321、CL070320、CL070324、CL070341、CL070350、

CL070349、CL070348、CL070370，或J253，結合於相同的人類MUC18的抗原決定位，於本文提供它們各自的結構特徵。

【0005】於一些具體實施例中，抗MUC18抗體可包含重鏈可變區(heavy chain variable region， V_H)，其中該重鏈互補決定區1 (heavy chain complementary determining region 1，HC CDR 1)、重鏈互補決定區2 (HC CDR 2)以及重鏈互補決定區3 (HC CDR 3)總體上與該參照抗體的HC CDR1、HC CDR2，以及HC CDR3至少85% (例如，至少90%，至少95%，至少98%或更高)相同。於一些情況下，該抗體可包含 V_H ，該 V_H 包括與上述參照抗體之相同的HC CDR1、HC CDR2，以及HC CDR3。於其他具體實施例中，本文所述之抗MUC18抗體可包含 V_H ，該 V_H 包含HC CDR1、HC CDR2，以及HC CDR3，其相對於該參照抗體的HC CDR1、HC CDR2，以及HC CDR3，總體上包含最多5個、4個、3個、2個，或1個胺基酸殘基變異。

【0006】替代地或另外，本文所述之抗MUC18抗體可包含輕鏈可變區(light chain variable region， V_L)，其中該輕鏈互補決定區1 (LC CDR 1)、輕鏈互補決定區2 (LC CDR 2)，以及輕鏈互補決定區3 (LC CDR 3)總體上與該參照抗體的LC CDR1、LC CDR2，以及LC CDR3至少85% (例如，至少90%、至少95%、至少98%或更高)相同。於一些情況下，該抗體可包含與上述參照抗體之相同的LC CDR1、LC CDR2，以及LC CDR3。於其他具體實施例中，本文所述之抗MUC18抗體可包含LC CDR1、LC CDR2，以及LC CDR3，其相對於該參照抗體的LC CDR1、LC CDR2，以及LC CDR3，總體上包含最多5個、4個、3個、2個，或1個胺基酸殘基變異。

【0007】於一些實施例中，本文所述之抗MUC18抗體包含與上述參照抗體之相同的重鏈及/或輕鏈CDRs。於一些情況下，這樣的抗MUC18抗體可包含與該參照抗體相同的V_H及/或V_L。

【0008】本文所述之任何抗MUC18抗體均可特異性結合人類MUC18。於一些情況下，該抗MUC18抗體可與人類MUC18以及非人類MUC18，例如靈長類MUC18，交叉反應。該抗體可為人類抗體或人源化抗體。於一些實施例中，它可為嵌合抗體。

【0009】於一些具體實施例中，該抗MUC18抗體可為全長抗體(例如，一IgG分子)或其抗原結合片段。或者，其可為單鏈抗體。

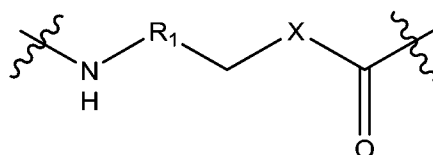
【0010】於另一方面，本發明公開內容的特徵在於總體編碼本文所述之任何抗MUC18抗體的核酸或核酸組(例如，兩個核酸)，以及包含編碼該抗MUC18抗體的核酸的載體或載體組(例如，兩個載體)。在某些情況下，該載體或載體組可為表現載體。本文還提供包含該核酸或載體的宿主細胞。此外，本發明提供一種製備本文所述之抗MUC18抗體的方法，包含培養包含該抗體的編碼序列的該載體或載體組的宿主細胞，其中該編碼序列與合適的啟動子可操作地連接，並收穫例如從該宿主細胞或該培養基中產生的抗體。

【0011】另外，本發明提供了一抗體-藥物結合物(antibody-drug conjugate，ADC)，其包含：本文所述之任何抗MUC18抗體，以及至少一種治療劑，其與該抗體共價結合。於一些實施例中，該治療劑可為一細胞毒性劑，例如，單甲基奧利他汀E。

【0012】於一些具體實施例，該抗體與該治療劑可透過連接子結合。於一些實施例中，該連接子可為可裂解的連接子，例如，蛋白酶敏感的连接子、pH

敏感的连接子，或麩胱甘肽敏感的连接子。於一些情況下，該连接子可為蛋白酶敏感的连接子，其可包含具有2-5個胺基酸的胜肽。該胜肽可包含天然存在的胺基酸殘基、非天然存在的胺基酸殘基，或其組合。於一實施例中，該胜肽可包含纈胺酸-瓜胺酸。在其他實施例中，該连接子可為不可裂解的连接子。這種不可裂解的连接子可包含可視需要經取代的烷烴或硫醚。

【0013】 於一些具體實施例中，該连接子可包含在該抗體與該连接子之間形成共價鍵的官能基團。示例性的官能基團包括，但不限於，馬來醯亞胺基、碘乙醯胺基、乙烯基砒基、丙烯酸酯基、丙烯醯胺基、丙烯腈基，以及甲基丙烯酸酯基。於一實施例中，該连接子可進一步為式I的分子間隔基：



(式 I)

其中

R_1 為可視需要經取代的 C_{1-6} 烷基、可視需要經取代的苯基、可視需要經取代的 C_{2-6} 亞烷基、可視需要經取代的 C_{2-6} 亞烯基、可視需要經取代的 C_{2-6} 亞炔基，或可視需要經取代的三唑；且X為O、S，或N。

【0014】 於另一方面，本發明提供了一種醫藥組合物，其包含(i) 一種或多種本文所述之抗MUC18抗體、編碼該抗體的核酸或核酸組，或如本文所述之抗體-藥物結合物，以及(ii) 醫藥上可接受之載體。

【0015】 此外，本發明之特徵在於一種減少MUC18⁺細胞數目之方法，該方法包含對有此需要的個體施用有效量之如本文所述之任何醫藥組合物。於一些具體實施例中，該個體可為一患有或懷疑患有癌症例如上皮癌的人類患者。

同樣在本發明之範圍內的是如本文所述之醫藥組合物，其用於治療任何也在本文所述之目標疾病(例如，癌症，例如上皮癌)或用於製造用於治療該目標疾病的藥物。

【0016】 另外，本發明之特徵在於一種檢測MUC18⁺細胞存在之方法，該方法包含：(i) 使懷疑具有MUC18⁺細胞的樣品與如本文所述之任何抗MUC18抗體接觸，該抗體與標記劑綴合；以及(ii) 基於該抗體與該樣品中細胞的結合來檢測該樣品中MUC18⁺細胞的存在。在某些情況下，該樣品來自患有癌症或懷疑患有癌症的人類患者，例如上皮癌。

【0017】 於以下之描述中闡述本發明之一或多個具體實施例之細節。從以下附圖與數個具體實施例之詳細描述，以及從所附申請專利範圍，本發明之其他特徵或優點將變得顯而易見。

【圖式簡單說明】

【0018】 圖1為在流式細胞儀實驗中A375中的MUC18的siRNA敲低導致抗MUC18抗體與A375細胞結合減少的圖。相較於未以MUC18為目標的對照siRNA處理的細胞(對照組)，抗MUC18抗體(J253)與以MUC18為目標的siRNA處理的細胞(MUC18.si)結合的量較低。

【0019】 圖2為顯示抗MUC18抗體(J253)能夠結合靈長類MUC18與人類MUC18的圖。

【0020】 圖3A-3E包括顯示抗MUC18抗體-藥物結合物(使用Val-Cit連接子(J253-vc-MMAE)結合至MMAE的J253)能夠以MUC18⁺黑素瘤細胞株為目標的圖。圖3A：顯示J253-vc-MMAE被內化到A375細胞中($T_{1/2}$ 為2.5小時)的圖。圖

3B-3D：顯示J253-vc-MMAE分別對MUC18⁺細胞株HMV-II、SK-MEL-2，以及GAK細胞的抑制作用的圖。**圖3E**：顯示J253-vc-MMAE對MUC18⁻細胞株(NCI-N87)缺乏抑制作用的圖。

【0021】 圖4為顯示J253-vc-MMAE在減少A375異種移植小鼠模型中的腫瘤體積方面有效的圖。

【0022】 圖5包括顯示抗MUC18 CAR慢病毒轉導至CD3⁺ T細胞的效率的圖。

【0023】 圖6A-6E包括顯示抗MUC18 CAR⁺ T細胞在誘導針對各種MUC18⁺細胞株的抗原依賴性細胞毒性中的作用的圖。**圖6A-6D**：顯示抗MUC18 CAR⁺ T細胞分別有效誘導針對MUC18⁺細胞株A375、SK-MEL-2、GAK，以及HMV-II細胞的抗原依賴性細胞毒性的圖。**圖6E**：顯示抗MUC18 CAR⁺ T細胞在MUC18⁻細胞(SKOV-3)中不誘導抗原依賴性細胞毒性的圖。

【0024】 圖7A-7E包括顯示當與各種MUC18⁺細胞株共培養時MUC18 CAR⁺ T細胞在誘導IFN γ 分泌中的作用的圖。**圖7A-7D**：顯示當分別與MUC18⁺細胞株A375、SK-MEL-2、GAK，以及HMV-II細胞共培養時，抗MUC18 CAR⁺ T細胞可有效誘導IFN γ 的分泌。**圖7E**：顯示當與MUC18⁻細胞(SKOV-3)共培養時，抗MUC18 CAR⁺ T細胞不誘導IFN γ 的分泌。

【實施方式】

【0025】 本文公開了許多抗MUC18抗體，其顯示出優異的特徵，包括對目標MUC18抗原的高結合親和力及/或對MUC18⁺細胞的高抑制活性。

【0026】因此，本文提供了能夠結合MUC18的抗體，編碼這類抗體的核酸，包含抗MUC18抗體的抗體-藥物結合物(ADCs)與嵌合抗原受體(CARs)，以及其在治療及診斷目的之用途。本文還提供了使用抗體及/或ADCs與包含這些的CARs的治療及/或診斷用途之套組，以及用於產生該抗MUC18抗體之方法。

與MUC18結合之抗體

【0027】本發明提供結合MUC18的抗體，MUC18也被稱為CD146或黑素瘤細胞黏附分子(MCAM)。在人類中，MUC18由MCAM基因(NCBI基因ID: 4162)編碼。MUC18在人類惡性黑色素瘤中過度表現，具體而言是在轉移性病變以及晚期原發性腫瘤中。由於其細胞黏附功能，MUC18可作為黑色素瘤細胞與血管系統細胞元素之間的接觸點。這種接觸可能使黑色素瘤病變以及腫瘤滲透到血管系統中，並在發炎過程中轉移白血球。另外，MUC18被認為觸發FYN與PTK2/FAK1的酪胺酸磷酸化。此外，黑色素瘤患者中MUC18表現量的升高也被證明是不良預後及生存的標誌。因此，該受體可作為治療及診斷目標癌症的標靶及/或生物標記。

【0028】因此，本文所公開之抗MUC18抗體可單獨或與其他部分結合用於治療及/或診斷本文所述之目標癌症，例如，與一治療劑結合以形成一抗體-藥物結合物或在一嵌合抗原受體中作為胞外抗原結合結構域。以MUC18⁺細胞為目標的細胞療法也在本發明內容之內，以消除表現細胞表面MUC18的疾病細胞(例如，MUC18⁺癌細胞)。

【0029】抗體(與複數形式可互換使用)為一種免疫球蛋白分子，其能夠透過位於該免疫球蛋白分子的可變區的至少一個抗原識別位點特異性結合至目標，例如，碳水化合物、多核苷酸、脂質、多胜肽等。如本文所用，「抗體」

乙詞不僅涵蓋完整的(即，全長)多株或單株抗體，還包括其抗原結合片段(例如 Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv)、單鏈(scFv)、其突變體、包含抗體部分的融合蛋白、人源化抗體、嵌合抗體、雙抗體、奈米抗體、線性抗體、單鏈抗體、多特異性抗體(例如，雙特異性抗體)以及該免疫球蛋白分子的任何其他修飾構型，其包含具有所需特異性的抗原識別位點，包括抗體的糖基化變體、抗體的胺基酸序列變體，以及共價修飾的抗體。抗體包括任何類別的抗體，例如IgD、IgE、IgG、IgA，或IgM(或其亞類)，且該抗體不必為任何特定類別。根據其重鏈恆定結構域的抗體胺基酸序列，免疫球蛋白可分為不同類別。免疫球蛋白有五種主要類別：IgA、IgD、IgE、IgG，以及IgM，其中一些可進一步分為亞類(同種型)，例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1與IgA2。對應於不同類別的免疫球蛋白的重鏈恆定域分別稱為 α 、 δ 、 ϵ 、 γ ，以及 μ 。不同種類的免疫球蛋白的亞基結構與立體構型為眾所周知的。

【0030】典型的抗體分子包含重鏈可變區(V_H)以及輕鏈可變區(V_L)，其通常與抗原結合有關。該V_H與V_L區域可進一步細分為高變區，亦稱為「互補決定區」(complementarity determining regions, CDR)，散佈著較為保守的區域，即「框架區」(framework regions, FR)。每個V_H與V_L通常由三個CDRs以及四個FRs所組成，它們按以下順序從胺基端到羧基端排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。可使用本領域已知的方法，例如透過Kabat定義，Chothia定義，AbM定義，及/或接觸定義來精確地識別框架區與CDRs的程度，所有這些在本領域中為眾所周知的技術。參見，例如，Kabat, E.A.等人(1991年) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第五版，美國衛生暨人力服務部，NIH出版編號91-3242, Chothia等人(1989年) *Nature* 342:877；Chothia, C.等人(1987年) *J. Mol.*

Biol. 196:901-917, Al-lazikani等人(1997年) J. Molec. Biol. 273:927-948 ; 以及 Almagro, J. Mol. Recognit. 17:132-143 (2004年) 。亦參見hgmp.mrc.ac.uk以及 bioinf.org.uk/abs 。

【0031】 於一些具體實施例中，本文所述之抗MUC18抗體可結合並抑制MUC18的活性至少50% (例如，60%、70%、80%、90%、95%或更高)。表觀抑制常數(K_i^{app} 或 $K_{i,app}$)提供了抑制劑效力的量度，與降低酶活性所需的抑制劑濃度有關，而與酶濃度無關。可透過本領域已知的常規方法確定本文所述之抗MUC18抗體的抑制活性。

【0032】 抗體的 K_i^{app} 值可透過測量不同濃度的抗體對反應程度(例如，酶活性)的抑制作用來確定；將假一階速率常數(v)隨抑制劑濃度的函數擬合到修改後的Morrison方程(方程式1)可得出表觀 K_i 值的估計值。對於競爭性抑制劑，可從 y 截距中獲得 K_i^{app} ，該截距為從 K_i^{app} 對基質濃度的圖的線性回歸分析中得到的。

$$v = A \cdot \frac{([E] - [I] - K_i^{app}) + \sqrt{([E] - [I] - K_i^{app})^2 + 4[E] \cdot K_i^{app}}}{2} \quad (\text{方程式1})$$

其中 A 等於 v_0/E ，不存在抑制劑(I)時酶促反應的初始速度(v_0)除以總酶濃度(E)。

【0033】 於一些具體實施例中，本文所述之抗MUC18抗體的 K_i^{app} 值對於MUC18抗原或其抗原決定位可為1000、900、800、700、600、500、400、300、200、100、50、40、30、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5 pM或更小。於一些具體實施例中，相對於第二目標，抗MUC18抗體對於第一目標可具有較低的 K_i^{app} 。 K_i^{app} 的差異(例如，針對特異性或其他比較)至

少可以為1.5、2、3、4、5、10、15、20、37.5、50、70、80、91、100、500、1000、10,000或 10^5 倍。

【0034】 本文所述之抗體可為小鼠、大鼠、人類或任何其他來源的抗體(包括嵌合或人源化抗體)。此類抗體為非天然存在的，即在沒有人為行為(例如，以所需抗原或其片段免疫此類動物)的情況下不會在動物中產生。

【0035】 本文所述之任何抗體可為單株的或多株抗體。「單株抗體」係指同質抗體群，「多株抗體」係指異質抗體群。這兩個術語並不限制抗體的來源或製備方式。

【0036】 於一實施例中，本文所述之方法所用的抗體為人源化抗體。人源化抗體係指非人類(例如，鼠)形式之抗體，其為含有來自非人類免疫球蛋白的最小序列之特異性嵌合免疫球蛋白、免疫球蛋白鏈，或其抗原結合片段。在大多數情況下，人源化抗體為人類免疫球蛋白(受體抗體)，其中來自受體之互補決定區(CDR)的殘基被來自非人類物種(供體抗體)的CDR之殘基替代，例如具有所需特異性、親和力與能力的小鼠、大鼠，或兔。於一些情況下，人類免疫球蛋白的Fv構架區(FR)殘基被相應的非人類殘基代替。此外，人源化抗體可包含不在受體抗體中，也不在進口的CDR或框架序列中發現之殘基，而是被包括以進一步改進及優化抗體性能。通常，人源化抗體將包含基本上所有至少一個，通常為二個可變結構域，其中所有或基本上所有的CDR區域對應於非人類免疫球蛋白與全部或基本上所有的FR區域為人類免疫球蛋白共有序列的那些。人源化抗體最佳還將包含免疫球蛋白恆定區或結構域(Fc)的至少一部分，通常為人類免疫球蛋白的恆定區或結構域(Fc)。抗體可以具有如WO 99/58572中所述之修飾的Fc區。其他形式的人源化抗體具有相對於原始抗體改變的一或多個CDR (一個、二

個、三個、四個、五個，及/或六個)，其也被稱為一或多個「衍生自」一或多個來自原抗體之CDR。人源化抗體也可能涉及親和力成熟作用。

【0037】於另一實施例中，本文所述之抗體可為嵌合抗體，其可包括來自人類抗體的重鏈恆定區與輕鏈恆定區。嵌合抗體係指具有來自第一物種的可變區或可變區的一部分以及來自第二物種的恆定區的抗體。通常，在這些嵌合抗體中，輕鏈及重鏈的可變區都模仿衍生自一種哺乳動物(例如，非人類哺乳動物，例如小鼠、兔，以及大鼠)的抗體的可變區，而恆定部分與來自另一種哺乳動物，例如人類抗體中的序列同源。於一些具體實施例中，可以在該可變區及/或恆定區中進行胺基酸修飾。

【0038】於一些具體實施例中，本文所述之抗MUC18抗體特異性結合相應的目標抗原或其抗原決定位。「特異性結合」抗原或抗原決定位的抗體為本領域眾所周知的術語。若某個分子與特定目標抗原的反應比與其他目標抗原的反應更頻繁、更快速、持續時間更長，及/或具有更大的親和力，則該分子將表現出「特異性結合」。若一抗體以比與其他物質結合的更大的親和力、結合性、更容易，及/或以更長的持續時間結合，則與一目標抗原或抗原決定位「特異性結合」。例如，一特異性地(或優先地)結合於一MUC18抗原或其中的抗原決定位的抗體為與該目標抗原結合的抗體，其結合性比其結合其他抗原或同一抗原中的其他抗原決定位的親和力、結合性更大，更容易，及/或持續時間更長。透過該定義還應理解的是，例如，特異性結合第一目標抗原的抗體可以或可以非特異性結合或優先結合一第二目標抗原。如此，「特異性結合」或「優先結合」並不一定需要(儘管可以包括)排他結合。於一些實施例中，「特異性結合」目標抗原或其抗原決定位的抗體可能不結合其他抗原或相同抗原中的其他抗原決定

位。於一些具體實施例中，本文所述之抗MUC18抗體特異性結合人類MUC18。於一些實施例中，其與非人類MUC18抗原的結合活性在常規測定中不可檢測或非常低，以致如本領域技術人員所知，其將不具有顯著的生物學意義。於其他實施例中，本文所述之抗MUC18抗體可與來自不同物種的MUC18交叉反應，例如，在人類MUC18與非人類MUC18之間(例如，來自實驗動物例如非人類的靈長類、小鼠或大鼠的MUC18)。

【0039】如本文所用，「MUC18」、「MCAM」、「CD146」或「黑素瘤細胞黏附分子」等詞係指任何合適種類的MUC18蛋白，例如人類、非人類哺乳動物，例如非人類靈長類動物或嚙齒動物(例如，小鼠或大鼠)。MUC18為主要在細胞黏附中具有作用的一種跨膜醣蛋白。以下提供了示例性人類MUC18的胺基酸序列(亦參見NCBI登錄號NP_006491)：

1 mglprlvcaf llaaccccpr vagvpgeaeq papelvevev gstallkegl sqsqgnlshv
61 dwfsvhkekr tlfrvrqgq gqsepgeyeq rlsldrgat laltqvtpqd eriflcqgkr
121 prsqeyriql rvykapeepn iqvnplgipv nskepeevat cvgrngypip qviwykngrp
181 lkeeknrvhi qssqt vessg lytlqsilka qlvkedkdaq fycelnyrlp sgnhmkesre
241 vtvpvfypte kvwlevepvg mlkegdrvei rcladgnppp hfsiskqnps treaceettn
301 dngvvllepa rkehsgryec qgldldtmis llsepqellv nyvsdvrvsp aaperqegss
361 ltlceaess qdlefqwlre etgvqlergp vlqlhdlkre aggyrcvas vpsipglnt
421 qlvnvaifgp pwmafkerkv wvkenmvlnt sceasghrp tiswnvngta seqdqpqr
481 lstlnvlvtp elletgvect asndlgknts ilflelvnlt tltpdsnttt glststasph
541 transtster klpepesrgv vivavivcil vlavlgavly flykkglpc rrsqkqeil
601 ppsrkselvv evksdklpee mgllqgssgd krapgdqgek yidlrh (SEQ ID NO: 7)

【0040】來自其他物種的MUC18分子在本領域中為眾所周知的，且其胺基酸序列可從公眾可獲得的資料庫，例如GenBank或NCBI中檢索。

【0041】於一些具體實施例中，本文所述之抗MUC18抗體對目標抗原(例如，人類MUC18)或其抗原決定位具有合適的結合親和力。如本文所用，「結合親和力」係指表觀締合常數或 K_A 。 K_A 為解離常數(K_D)的倒數。本文所述之抗MUC18抗體對目標抗原或抗原決定位的結合親和力(K_D)至少為 10^{-5} 、 10^{-6} 、 10^{-7} 、 10^{-8} 、 10^{-9} 、 10^{-10} M或更低。結合親和力增加對應於 K_D 降低。相對於一第二抗原，一抗體對一第一抗原的更高親和力結合可透過與結合該第二抗原的 K_A (或數值 K_D)相比，與第一抗原結合的 K_A 更高(或較小數值的 K_D)來表示。於這樣的情況下，該抗體相對於該第二抗原(例如，第二構象或其模擬的相同的第一蛋白質；或第二蛋白質)對該第一抗原(例如，具有第一構象或其模擬的第一蛋白質)具有特異性。於一些具體實施例中，相較於一不同物種的對MUC18的結合親和力，本文所述之抗MUC18抗體對人類MUC18具有更高的結合親和力(更高的 K_A 或較小的 K_D)。結合親和力的差異(例如，針對特異性或其他比較)可至少為1.5、2、3、4、5、10、15、20、37.5、50、70、80、91、100、500、1000、10,000或 10^5 倍。於一些具體實施例中，任何抗MUC18抗體可進一步親和力成熟以增加抗體對目標抗原或其抗原決定位的結合親和力。

【0042】結合親和力(或結合特異性)可透過多種方法確定，包括平衡透析、平衡結合、凝膠過濾、ELISA、表面等離振子共振，或光譜法(例如，使用螢光測定法)。用於評估結合親和力的示例性條件為在HBS-P緩衝液(10 mM HEPES pH7.4、150 mM NaCl，0.005% (v/v)界面活性劑P20)中。這些技術可用於

測量結合的結合蛋白的濃度作為目標蛋白濃度的函數。結合的結合蛋白([Bound])的濃度通常與游離的目標蛋白([Free])的濃度有關，其關係式如下：

$$[\text{Bound}] = [\text{Free}] / (K_d + [\text{Free}])$$

【0043】 但是，並非總是必須精確地確定 K_A ，因為有時足以獲得親和力的定量測量(例如，使用ELISA或FACS分析等方法測定)與 K_A 成正比，因此可用於比較，例如確定較高的親和力是否例如高2倍，以獲取對親和力的定性測量，或例如透過功能測定，例如體外或體內分析，的活性來推斷親和力。

【0044】 於一些具體實施例中，本文所述之抗MUC18抗體與本文提供的參照抗體之結合於MUC18抗原(例如，人類MUC18)中的相同抗原決定位，或與參照抗體競爭結合至該MUC18抗原。本文提供的參照抗體包括CL070336、CL070335、CL070333、CL070319、CL070321、CL070320、CL070324、CL070341、CL070350、CL070349、CL070348、CL070370，或J253，其各自的結構特徵在本文中提供。與本文所述之參照抗體結合相同抗原決定位的抗體可以與完全相同的抗原決定位或基本上重疊的抗原決定位結合(例如，包含少於3個非重疊胺基酸殘基，少於2個非重疊胺基酸殘基，或僅1個非重疊胺基酸殘基)作為參照抗體。兩種抗體是否由於結合同源抗原而彼此競爭，可透過競爭測定法來確定，這是本領域眾所周知的。可以如本領域技術人員已知的來鑑定此類抗體，例如，具有基本相似的結構特徵的抗體(例如，互補決定區)，及/或透過本領域已知的測定法鑑定的抗體。例如，可使用參照抗體之一進行競爭測定，以確定候選抗體是否與參照抗體結合相同的抗原決定位或競爭其與MUC18抗原的結合。

【0045】 本文所述之抗MUC18抗體可包含重鏈可變區(V_H)，其可包含(a)於CL070336、CL070335、CL070333、CL070319、CL070321、CL070320、

CL070324、CL070341、CL070350、CL070349、CL070348、CL070370、J253中的重鏈互補決定區1 (HC CDR 1)；(b) 於CL070336、CL070335、CL070333、CL070319、CL070321、CL070320、CL070324、CL070341、CL070350、CL070349、CL070348、CL070370、J253中的一重鏈互補決定區2 (HC CDR2)；(c) 於CL070336、CL070335、CL070333、CL070319、CL070321、CL070320、CL070324、CL070341、CL070350、CL070349、CL070348、CL070370、J253中的一重鏈互補決定區3 (HC CDR3)；或(d) (a)-(c)中任何一項之組合。於一些情況下，該抗體可包含(a)的HC CDR1、(b)的HC CDR2，以及(c)的HC CDR3。

【0046】 表1提供了示例性抗MUC18抗體的重鏈CDR的胺基酸序列(透過IMGT定義)。具有與那些示例性抗MUC18抗體相同的重鏈CDR1、CDR2，以及CDR3區域的抗體包含在本發明之範圍內。

【0047】 表1：抗MUC18參照抗體的重鏈CDR序列

示例性抗體	互補決定區 1	互補決定區 2	互補決定區 3
CL070336	GYSITSGYS (SEQ ID NO: 8)	MHYSATP (SEQ ID NO: 18)	SRSLNWDVLDY (SEQ ID NO: 30)
CL070335	GYSITSGYS (SEQ ID NO: 8)	IHYSTTT (SEQ ID NO: 19)	SRSLNWDVLDY (SEQ ID NO: 30)
CL070333	GFTFTGYY (SEQ ID NO: 9)	IYPGNVNT (SEQ ID NO: 20)	ARSGYFASSYEFAY (SEQ ID NO: 31)
CL070319	GYTFTEYA (SEQ ID NO: 10)	ITAYSGDA (SEQ ID NO: 21)	ARGLGRPNYGM DY (SEQ ID NO: 32)
CL070321	GYTFTDYN (SEQ ID NO: 11)	INPNNGGT (SEQ ID NO: 22)	ARSGYDDYYAFDY (SEQ ID NO: 33)
CL070320	GYTFTDYN (SEQ ID NO: 11)	INPNNGGT (SEQ ID NO: 22)	ARSGYDNYALDY (SEQ ID NO: 34)
CL070324	GYTFTDYN (SEQ ID NO: 11)	INPNNGAT (SEQ ID NO: 23)	TRSGYDDYYALDY (SEQ ID NO: 35)
CL070341	GFTFSTYG (SEQ ID NO: 12)	INSRAS YT (SEQ ID NO: 24)	ARHRRDWDSYYAM DY (SEQ ID NO: 36)
CL070350	GFTFN NYG (SEQ ID NO: 13)	INRGGSYT (SEQ ID NO: 25)	ARHRRDWDSYYAM DY (SEQ ID NO: 36)
CL070349	GYSITSGFY (SEQ ID NO: 14)	INFGGTN (SEQ ID NO: 26)	ARGGNDGGFTY (SEQ ID NO: 37)
CL070348	GYSITSDYA (SEQ ID NO: 15)	ITYSGST (SEQ ID NO: 27)	ARRIRRTGDWYFDV (SEQ ID NO: 38)

CL070370	GYTFTDYS (SEQ ID NO: 16)	INTETGEP (SEQ ID NO: 28)	VSYDYDAVSY (SEQ ID NO: 39)
J253	GYTFTSYD (SEQ ID NO: 17)	IFPGDGST (SEQ ID NO: 29)	ARYHFFDN (SEQ ID NO: 40)

【0048】 替代地或另外地，本文所述之抗MUC18抗體可包含一輕鏈可變結構域(V_L)，其包含一輕鏈可變區(V_L)，其包含(a) 於CL070336、CL070335、CL070333、CL070319、CL070321、CL070320、CL070324、CL070341、CL070350、CL070349、CL070348、CL070370、J253中的一輕鏈互補決定區1 (LC CDR 1)；(b) 於CL070336、CL070335、CL070333、CL070319、CL070321、CL070320、CL070324、CL070341、CL070350、CL070349、CL070348、CL070370、J253中的一輕鏈互補決定區2 (LC CDR2)；(c) 於CL070336、CL070335、CL070333、CL070319、CL070321、CL070320、CL070324、CL070341、CL070350、CL070349、CL070348、CL070370、J253中的一輕鏈互補決定區3 (LC CDR3)；或(d) (a)-(c)的任何組合。

【0049】 表2提供了示例性抗MUC18抗體的輕鏈CDR的胺基酸序列。具有與那些示例性抗MUC18抗體相同的輕鏈CDR1、CDR2，以及CDR3區域的抗體包含在本發明之範圍內。

【0050】 表2：抗MUC18參照抗體的輕鏈CDR序列

示例性抗體	互補決定區 1	互補決定區 2	互補決定區 3
CL070336	KSVRTSGYNY (SEQ ID NO: 41)	LAS	QHSREFPFT (SEQ ID NO: 53)
CL070335	KSVRTSGYSY (SEQ ID NO: 42)	LAS	QHTREFPFT (SEQ ID NO: 54)
CL070333	ENIYSY (SEQ ID NO: 43)	NAK	QHHYGTPLT (SEQ ID NO: 55)
CL070319	QSLNSTRYQKNY (SEQ ID NO: 44)	FAS	QQHYGTPFT (SEQ ID NO: 56)
CL070321	SSVGY (SEQ ID NO: 45)	STS	HQWSSYPST (SEQ ID NO: 57)
CL070320	STVGY	STS	HQWSSYPCT

	(SEQ ID NO: 46)		(SEQ ID NO: 58)
CL070324	SSVGY (SEQ ID NO: 45)	STS	HQWSNYPST (SEQ ID NO: 59)
CL070341	QSVLYNSNQKNY (SEQ ID NO: 47)	WAS	HQYLSSWT (SEQ ID NO: 60)
CL070350	RSVLYNSNQKNY (SEQ ID NO: 48)	WAS	HQYLSSWT (SEQ ID NO: 60)
CL070349	SSVSSTY (SEQ ID NO: 49)	RTS	HQWSGYPYT (SEQ ID NO: 61)
CL070348	QNLLNSVNQKNF (SEQ ID NO: 50)	WAS	QNDYIYPYT (SEQ ID NO: 62)
CL070370	QYVGAA (SEQ ID NO: 51)	WAS	QQYGNYRT (SEQ ID NO: 63)
J253	KSLLYKDGKTY (SEQ ID NO: 52)	LMS	QQLVEYPYT (SEQ ID NO: 64)

【0051】 本文提供之參照抗體的重鏈及輕鏈CDR基於IMGT方法確定，這是本領域眾所周知的。於一些情況下，本文公開的抗MUC18抗體可包含與本文公開的任何參照抗體相同的重鏈及輕鏈CDR。具有相同V_H及/或V_L CDR的兩種抗體表示，當透過相同方法測定時，它們的CDR是相同的(例如，本文所述及/或本領域已知的那些)。

【0052】 於一些實施例中，本文公開之抗MUC18抗體可包含與該參照抗體之相同的V_H及/或V_L序列，其在以下提供(CDRs以粗體字表示)：

CL070336
V_H(SEQ ID NO: 65):
DVQLQESGPDLVKPYQSLSLTCTVTGYSITSGYSWHWIRQFPGNKLEW
LGYMHYSATPNYNPSLKSRSITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCS
RSLNWDVLDYWGQGTTLIVSS
V_L(SEQ ID NO: 66):
DIVLTQSPAYLPVSLGQRATISCRASKSVRTSGYNYLHWYQQKPGQPP
KLLIYLASNPESGVPGRFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDSATYYCQHREF
PFTFGGGTQLEIK

CL070335
V_H(SEQ ID NO: 67):

DVQLQESGPD LVKPSQSLSLTCTVTGYSITSGYSWHWIRQFPGNKLEW
MGYIHYSTTTNYNPSLKSRI SITRDT SKNQFFLQLSSVTTEDTATYFCSR
SLNWDVLDYWGQGTTLIVSS

V_L (SEQ ID NO: 68):

DIVLTQSPAYLPVSLGQRATISCRASKSVRTSGYSYLHWYQQKPGQPPK
LLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQHTREFP
FTFGGGTKLEIK

CL070333

V_H (SEQ ID NO: 69):

QVQLQQSGPELVKPGTSVKISCKASGFTFTGYYLHWLKRPGQGLEWI
GWYIPGNVNTEFNEKFKGQATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFC
ARSGYFASSYEFAYWGQGT LVT VSA

V_L (SEQ ID NO: 70):

DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASENIYSYLA WYQQKQKGKSPQLLV
YNAKT LAEGVPSRFSVSGSGTHFSLKINSLQPEDFGSYYCQHHYGTPLT
FGAGTKLELK

CL070319

V_H (SEQ ID NO: 71):

QVQLQQSGAELLRPGVSVKISCKGSGYTFTEYAMHWVKQSHAKSLEW
IGVITAYSGDAFYNLKFKGKATVTVDKSSSTAYMELARLTSEDSAIYYC
ARGLGRPNYGMDYWGQGT SVTVSS

V_L (SEQ ID NO: 72):

DIVMTQSPSSLAMSVGQKVTMSCKSSQSLLSRYOKNYLA WYQQKPG
QSPKLLLYFASTRESGVDRFIGSGSGTDFTLTISSVQAEDLADYFCQOH
YGTPFTFGSGTKLEIK

CL070321

V_H (SEQ ID NO: 73):

EVLLQQSGPELVKPGASVKIPCKASGYTFTDYNIDWVKQSHGKSLEWI
GDINPNNGGTLYNQKFKAKATMTVDKSSSTAYMELRSLTSDDTAVYY
CARSGYDDYAFDYWGQGT SVTVSS

V_L (SEQ ID NO: 74):

QVVLTQSPAIMSAFLGEKITLTCSASSSVGYLHWYQQKSGTSPKLLIYS
TSNVASGVPSRFSGSGSGTFYSLKISSVEAEDAADYYCHOWSSYPSTFG
AGTRLELK

CL070320

V_H (SEQ ID NO: 75):

EVLLQQSGPELVQPGTSVKIPCKASGYTFTDYNMDWVKQSHGKSLEWI
GDINPNNGGTLYNQKFKGKATLSVDKSSSTAYMELRSLTSEDAAVYY
CARSGYDNYALDYWGQGTSTVTVSS

V_L (SEQ ID NO: 76):

QIVLTQSPPIMSASLGEEITLTCSASSTVGYMHWFQQKSGTSPKLLIYST
SNLASGVPSRFSSGSGTGFYSLTISSVEAEDAADYYCHQWSSYPCTFGA
GTKLELK

CL070324

V_H (SEQ ID NO: 77):

EVLLQQSGPELVKPGASVKIPCKASGYTFTDYNMDWVKQSHGKSLEW
IGDINPNNGATLYNQNFGRGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSED TAVYY
CTRSGYDDYYALDYWGQGTSTVTVSS

V_L (SEQ ID NO: 78):

QTVLTQSPAIMASASLGEEITLTCSASSSVGYMHWYQQKSGTSPKLLIYS
TSNLASGVPSRFSGRGSGTGFYSLTISTVEAEDAADYYCHQWSNYPSTFG
TGTKLELK

CL070341

V_H (SEQ ID NO: 79):

EVQLVESGGDLVRPGGSLKLSCAASGFTFESTYGMSWVRQSPDKRLEW
VATINSRASYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSSLKSEDTGLYFC
ARHRRDWDSYYAMDYWGQGTSTVTVSS

V_L (SEQ ID NO: 80):

NIMLTQSPSSLA VSTGDKVTMNCKSSQSVLYNSNOKNYLAWYQQKPG
QSPTLLIYWASTSESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCHQ
YLSSWTFGGGGTKLEIK

CL070350

V_H (SEQ ID NO: 81):

AVQLVESGGDLLRPGGSLKLSCVASGFTFNNYGMSWVRQTPDKRLEW
VATINRGGSYTYYTD SVKGRFTISRDNAKKTLYLQMSSLKSEDTAMYY
CARHRRDWDSYYAMDYWGQGTSTVTVSS

V_L (SEQ ID NO: 82):

NIMMTQSPSSLA VSAGDKVAMSCKSSRSVLYNSNOKNYLAWYQLKPG
QSPKLLIYWASTRESGVPRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCHQ
YLSSWTFGGGGTKVEIK

CL070349

V_H (SEQ ID NO: 83):

DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSGFYWNWIRQLPGNKLEW
LGYINFGGTNNYNPSLKIRGSITRDTSKNQFFLKLNSVTTEDTATYYCA
RGGNDGGFTYWGQGTTLTVSA

V_L (SEQ ID NO: 84):
ENVLTQSPAIVAASLGQKVTMTCRASSSVSSTYFHWYQQKSGASPKPL
LHRTSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSVEAEDDATYYCHOWSGYP
YTFGGGGTKLEIK

CL070348

V_H (SEQ ID NO: 85):
DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWHWIRQCPGNKLEW
MAYIITYSGSTSYNPSLKGRFSITRDTSKNQFFLQLNSVTSEDSATYYCA
RRIRRTGDWYFDVWGAGTTTVTVSS

V_L (SEQ ID NO: 86):
DIVMTQSPSSLTVTAGEKATMSCKSSQNLLNSVNQKNFLTWYQQKPG
QPPKLLIYWASARESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQN
DYIYPYTFGGGGTKLEIK

CL070370

V_H (SEQ ID NO: 87):
QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKTSGYTFTDYSMHWVKQAPRKGLKW
MGWINTETGEPTYADDFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLRNEDTATYF
CVSYDYDAVSYWGQGTTLTVSA

V_L (SEQ ID NO: 88):
DIVMTQSHKFMSTSVGDRVNITCKASOYVGAAVAWYQQKPGQSPKLL
IYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTINNVQSEDLADYFCQOYGNYR
TFGGGGTKLEIK

J253

V_H (SEQ ID NO: 89):
QVQLQQSGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYDINWVRQRPEQGLEWI
GWIFPGDGSTDYNEKFKGKATLTTDKSSSTAYMQLSRLTSEDSAVYFC
ARYHFFDNWGQGTTTLTVSS

V_L (SEQ ID NO: 90):
DIVITQDELSNPVTSGESVSISCRSSKSLLYKDGKTYLSWFLQRPQGSPQ
LLIYLMSTRASGVSDRFSGSGSGTDFTLEISRVKAEDVGVYYCQOLVEY
PYTFGGGGTKLEIK

【0053】 同樣在本發明內容之範圍內的是本文公開的任何參考抗-MUC18
抗體的功能變體(例如，以上表1與表2中列出的那些)。功能變體可在參照抗體的

一個或多個重鏈及輕鏈CDR區域中包含多達5個(例如4、3、2或1個)胺基酸殘基變異，並結合MUC18抗原的相同抗原決定位且具有基本相似的親和力(例如，具有相同順序的 K_D 值)。於一些情況下，相對於參照抗體中的對應CDR，功能變體中的每個重鏈及/或輕鏈CDR包含不超過2個胺基酸殘基變異。於一些實施例中，相對於參照抗體中的對應CDR，功能變體中的每個重鏈及/或輕鏈CDR包含不超過1個胺基酸殘基變異。

【0054】 於一實施例中，該胺基酸殘基變異為保守的胺基酸殘基取代。如本文所用，「保守胺基酸取代」係指不改變進行胺基酸取代的蛋白質的相對電荷或大小特徵的胺基酸取代。可根據本領域普通技術人員已知的用於改變多肽序列的方法來製備變體，例如在編譯此類方法的參考文獻中可以找到的，例如，Molecular Cloning: A Laboratory Manual, J. Sambrook等人編輯，第二版，冷泉港實驗室出版社，冷泉港，紐約，1989年，或Current Protocols in Molecular Biology, F.M. Ausubel等人編輯，John Wiley & Sons公司，紐約。胺基酸的保守取代包括在以下組內的胺基酸之間進行的取代：(a) M、I、L、V；(b) F、Y、W；(c) K、R、H；(d) A、G；(e) S、T；(f) Q、N；以及(g) E、D。

【0055】 於一些具體實施例中，該抗MUC18抗體包含與一參照抗體的重鏈CDRs總體上至少80% (例如，85%、90%、95%或98%)相同的重鏈CDRs，及/或與該參照抗體的輕鏈CDRs總體上至少80% (例如，85%、90%、95%或98%)相同的輕鏈CDRs。於一些具體實施例中，該抗MUC18抗體包含與任何參照抗體的一重鏈可變區至少80% (例如，85%、90%、95%或98%)相同的一重鏈可變區(V_H)，及/或與該參照抗體的輕鏈可變區至少80% (例如，85%、90%、95%或98%)相同的一輕鏈可變區(V_L)。

【0056】 使用Karlin與Altschul Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-68, 1990年，修改為Karlin與Altschul Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-77, 1993年的演算法確定兩個胺基酸序列的「同一性百分比」。這種演算法被併入Altschul等人J. Mol. Biol. 215:403-10, 1990年的NBLAST與XBLAST程式(2.0版)中。可以使用XBLAST程式，分數= 50，字長= 3，執行BLAST蛋白檢索，以獲得與目標蛋白分子同源的胺基酸序列。在兩個序列之間存在缺口的情況下，可以如Altschul等人在Nucleic Acids Res. 25(17):3389-3402, 1997年中所述利用有Gapped BLAST。當使用BLAST與Gapped BLAST程式時，可使用各個程式(例如，XBLAST與NBLAST)的預設參數。

【0057】 本發明還提供了本文公開之任何參考抗MUC18抗體的種系變體。種系變體相對於其朝向對應種系序列的親本抗體而言，在框架區中包含一或多個突變。為了產生種系變體，可將親本抗體或其一部分的重鏈或輕鏈可變區序列(例如，框架序列)作為對抗體種系序列資料庫的查詢(例如，bioinfo.org.uk/abs/，www.vbase2.org，或imgt.org)，以鑑定親本抗體使用的相應種系序列以及種系序列與親本抗體之間一或多個框架區中的胺基酸殘基變異。然後可以基於種系序列將一或多個胺基酸取代引入親本抗體中以產生種系變體。

【0058】 在一些情況下，本文所公開之參照抗體的功能性變體為該參照抗體的人源化抗體。示例包括：

人源化 CL070324

V_H(SEQ ID NO: 1):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNMDWVRQSPGQSLE
WMGDINPNNGATLYNQNFRGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVY
YCTRSGYDDYYALDYWGQGTTVTVSS

V_L (SEQ ID NO: 4):
DTQLTQSPSFLSASVGDRVTTITCSASSSVGYMHWYQQKPGKAPKLLIYS
TSNLASGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPEDFATYYCHQWSNYPSTFG
QGTKLEIK

人源化 hJ253-03-1

V_H (SEQ ID NO: 2):
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQAPGQGLE
WMGWIFPGDGSTDYNEKFKGRVTMTTDKSSSTAYMELSRRLRSDDTAV
YYCARYHFFDNWGQGTTVTVSS

V_L (SEQ ID NO: 5):
DIVMTQSPLSLAVSLGERATINCRSSKSLLYKDGKTYLSWFQQKPGQPP
KLLIYLMSTRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQLVE
YPYTFGGGTKVEIK

人源化 hJ253-03-7

V_H (SEQ ID NO: 3):
QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQAPGQGLEW
MGWIFPGDGSTDYNEKFKGRAVLSTDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYY
CARYHFFDNWGQGTTVTVSS

V_L (SEQ ID NO: 6):
DIVITQSPLSLAVSLGERATINCRSSKSLLYKDGKTYLSWFQQKPGQPP
QLLIYLMSTRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQLVE
YPYTFGGGTKVEIK

示例性抗體	鏈	序列	SEQ ID NO:
人源化 CL070324	重鏈	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS <u>GYTFTDYNMD</u> WVRQSPGQSLEWMGD <u>INPNNGAT</u> LYNQNFRGRVTI TRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYC <u>TRSGYDDYY</u> <u>ALDY</u> WGQGTTVTVSS	1
人源化 hJ253-03-1	重鏈	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS <u>GYTFTSYDIN</u> WVRQAPGQGLEWMGW <u>IFPGDGST</u> DYNEKFKGRVTM TTDKSSSTAYMELSRRLRSDDTAVYYC <u>ARYHFFDN</u> WGQGTTVTVSS	2
人源化 hJ253-03-7	重鏈	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKAS <u>GYTFTSYDIN</u> WVRQAPGQGLEWMGW <u>IFPGDGST</u> DYNEKFKGRAVL	3

		STDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYC <u>CARYHFFEDNW</u> GQGTTVTVSS	
人源化 CL070324	輕鏈	DTQLTQSPSFLSASVGDRVITITCSASSSVGYMHWY QQKPGKAPKLLIY <u>STSN</u> LASGVPSRFSGSGSGTEY TLTISSLQPEDFATYYC <u>CHQWSNYPST</u> FGQGTKLEIK	4
人源化 hJ253-03-1	輕鏈	DIVMTQSPLSLAVSLGERATINCRSS <u>KSLLYKD</u> GK <u>TYLSWFQQKPGQPPKLLIYLM</u> STRASGVDPDRFSGS GSGTDFTLTISLQAEDVAVYYC <u>COOLVEYPYTF</u> GG GTKVEIK	5
人源化 hJ253-03-7	輕鏈	DIVITQSPLSLAVSLGERATINCRSS <u>KSLLYKD</u> GK <u>TYLSWFQQKPGQPPQLLIYLM</u> STRASGVDPDRFSGS GSGTDFTLTISLQAEDVAVYYC <u>COOLVEYPYTF</u> GG GTKVEIK	6

【0059】 於一些具體實施例中，本文所述之任何抗MUC18抗體的重鏈可進一步包含一重鏈恆定區(CH)或其一部分(例如，CH1、CH2、CH3，或其組合)。該重鏈恆定區可為任何合適的來源，例如，人類、小鼠、大鼠，或兔。於一特定實施例中，該重鏈恆定區來自人類IgG (一 γ 重鏈)。當需要時，本文所述之抗MUC18抗體可包含一修飾的恆定區。例如，其可包含免疫學上惰性的修飾的恆定區，例如不觸發補體調節的裂解，或不刺激抗體依賴性細胞調節的細胞毒性 (antibody-dependent cell mediated cytotoxicity，ADCC)。可以使用在美國專利號 5,500,362 中公開的方法評估ADCC活性。於其他具體實施例中，該恆定區以如 Eur. J. Immunol. (1999年) 29:2613-2624；PCT申請號PCT/GB99/01441；及/或英國專利申請號9809951.8所述方式進行修飾。

【0060】 本文所述之任何抗MUC18抗體可進一步包含輕鏈，其包括輕鏈可變區以及可視需要地輕鏈恆定區，其可為本領域已知的任何CL。於一些實施例中，該CL為 κ 輕鏈。於其他實施例中，該CL為 λ 輕鏈。抗體重鏈與輕鏈恆定區為

本領域眾所周知的，例如，在 IMGT 資料庫 (www.imgt.org) 或在 www.vbase2.org/vbstat.php 中提供的那些，其均透過引用併入本文。

抗MUC18抗體之製備

【0061】如本文所述之能夠結合MUC18的抗體可透過本領域已知的任何方法來製備。參見，例如，Harlow與Lane，(1998年) *Antibodies: A Laboratory Manual*，冷泉港實驗室，紐約。

【0062】於一些具體實施例中，可透過常規雜交瘤技術製備對目標MUC18抗原(例如，人類MUC18)具有特異性的抗體。全長目標抗原或其片段，可視需要地與載體蛋白如KLH偶聯，可用於免疫宿主動物以產生與該抗原結合的抗體。如本文進一步所述，宿主動物的免疫途徑及時間表通常與建立的且常規的抗體刺激及產生技術一致。產生小鼠抗體、人源化抗體，以及人類抗體的通用技術為本領域已知的，並在本文中進行描述。預期可操縱包括人類或由此產生抗體的細胞在內的任何哺乳動物個體，以作為包括人類雜交瘤細胞株在內的哺乳動物產生的基礎。通常，以一定量的免疫原對宿主動物進行腹膜內、肌肉內、口服、皮下、足底內，及/或皮內接種，包括本文所述者。

【0063】可以使用Kohler、B.與Milstein, C. (1975年) *Nature* 256:495-497 所述之一般體細胞雜交技術從淋巴細胞與不朽化骨髓瘤細胞製備融合瘤，或由Buck, D. W.等人, *In Vitro*, 18:377-381 (1982年)所修改的方式進行。可用的骨髓瘤細胞株包括，但不限於，X63-Ag8.653與來自美國加州聖地亞哥細胞分佈中心的Salk研究所的那些骨髓瘤細胞株，可被用於雜交。通常，該技術涉及使用融合蛋白原，如聚乙二醇，或以本領域技術人員熟知的電子方式，來融合骨髓瘤細胞與淋巴細胞。融合後，將細胞與融合培養基分離，並在選擇性生長培養基如次

黃嘌呤 - 胺基蝶呤 - 胸腺核苷(HAT)培養基中生長，以除去未雜交之親本細胞。如本文所述之任何補充有或不含血清的培養基可用於培養分泌單株抗體的融合瘤。作為細胞融合技術之另一替代方法為，EBV不朽化B細胞可用於產生如本文所述之抗MUC18的單株抗體。如果需要，擴增並次選殖該融合瘤，並以常規免疫分析程序(例如，放射免疫分析、酵素免疫分析，或螢光免疫分析)測定上清液之抗免疫原活性。

【0064】可作為抗體來源之融合瘤包括產生能夠干擾MUC18活性的單株抗體之所有衍生物、親本融合瘤的後代細胞。產生這種抗體之融合瘤可使用已知的方法在體外或體內生長。如果需要，可透過常規的免疫球蛋白純化方法，如硫酸銨沉澱、凝膠電泳、透析、色層分析，以及超濾從培養基或體液中分離出單株抗體。如果存在不期望的活性，則可除去之，例如，透過在與固相連接的免疫原所製成之吸附劑上跑該製劑，並將所需之抗體從免疫原中洗脫或釋放出來。以目標抗原或含有與在待免疫之物種中具有免疫原性的蛋白質(例如，匙孔血藍蛋白、血清白蛋白、牛甲狀腺球蛋白，或使用雙功能或衍生劑的黃豆胰蛋白酶抑制劑，例如馬來醯亞胺基苯甲醯基磺基琥珀醯亞胺酯(透過半胱胺酸殘基之結合)、N-羥基琥珀醯亞胺(透過離胺酸殘基)、戊二醛、琥珀酸酐、SOCl₂，或R₁N=C=NR₂，其中R與R₁為不同之烷基)結合之目標胺基酸序列的片段免疫一宿主動物，可產生一群抗體(如，單株抗體)。

【0065】如果需要，可以定序有興趣(例如，由融合瘤產生)之抗體(單株或多株)，然後將該多核苷酸序列選殖至用於表現或增殖的載體中。編碼該有興趣之抗體的序列可以在宿主細胞中的載體內被維持，然後可擴增並冷凍該宿主細胞以供將來使用。或者，該多核苷酸序列可用於遺傳操作以使抗體「人源化」

或提高抗體之親和力(親和力成熟作用)或該抗體之其他特徵。例如，若該抗體被用於人類的臨床試驗及治療，則恆定區可被改造為更類似於人類之恆定區以避免免疫反應。可能需要遺傳操縱抗體序列以獲得對目標抗原的更大親和力，並在抑制MUC18活性方面具有更大的功效。對本領域技術人員而言顯而易見的是，可對抗體進行一或多種多核苷酸的改變，且仍保持其與目標抗原之結合特异性。

【0066】於其他具體實施例中，可透過使用已經被工程化以表現特定之人類免疫球蛋白的市售小鼠來獲得全人類抗體。設計用於產生更理想(例如，全人類抗體)或更強健的免疫反應之轉基因動物亦可用於產生人源化或人類抗體。這種技術的實施例為來自Amgen公司(Fremont，加州)的Xenomouse^{RTM}以及來自Medarex公司(Princeton，紐澤西州)的HuMAb-Mouse^{RTM}與TC MouseTM。在另一個替代方案中，可透過噬菌體展示技術或酵母菌技術重組抗體。參見，例如，美國專利第5,565,332號；第5,580,717號；第5,733,743號；以及第6,265,150號；以及Winter等人(1994年) Annu. Rev. Immunol. 12:433-455。或者，可使用噬菌體展示技術(McCafferty等人，(1990年) Nature 348：552-553)從來自未被免疫之供應體的免疫球蛋白可變(V)結構域基因庫中體外產生人類抗體與抗體片段。

【0067】於一些具體實施例中，可從抗體庫，例如噬菌體展示抗體庫或酵母展示抗體庫中分離能夠結合MUC18抗原的抗體。於一實施例中，例如，可依照美國專利公開號2015/0153356中公開之方法，從單株抗體庫中分離本文所述之抗MUC18抗體，出於相關目的或主題，將其相關公開內容透過引用併入本文。

【0068】可透過常規方法製備完整抗體(全長抗體)的抗原結合片段。例如，可以透過胃蛋白酶消化抗體分子產生F(ab')₂片段，以及可透過還原F(ab')₂片段的二硫鍵以產生Fab片段。

【0069】遺傳工程改造的抗體，如人源化抗體、嵌合抗體、單鏈抗體，以及雙特異性抗體可透過例如常規重組技術產生。於一實施例中，可使用常規方法(例如，透過使用能夠特異性結合編碼單株抗體之重鏈與輕鏈的基因之寡核苷酸探針)而容易地分離及定序編碼針對目標抗原特異性之單株抗體的DNA。融合瘤細胞是作為這種DNA的較佳來源。一經分離，可將該DNA置於一或多個表現載體中，然後將其轉染至宿主細胞內，如大腸桿菌細胞、猿猴COS細胞、中國倉鼠卵巢(CHO)細胞，或不另外產生免疫球蛋白的骨髓瘤細胞，以獲得重組宿主細胞中單株抗體之合成。參見，例如，PCT公開號WO 87/04462。然後可以修飾該DNA，例如，透過以編碼序列取代人類重鏈與輕鏈恆定結構域代替同源鼠序列，Morrison等人(1984年) Proc. Nat. Acad. Sci. 81:6851，或透過共價連接到免疫球蛋白編碼序列全部或部分之非免疫球蛋白多肽的編碼序列。以這樣的方式，遺傳工程化抗體，例如「嵌合」或「雜合」抗體；可被製備，而具有目標抗原之結合特異性。

【0070】為生產「嵌合抗體」所開發之技術為本領域熟知的。參見，例如，Morrison等人(1984年) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81, 6851；Neuberger等人(1984年) Nature 312, 604；以及Takeda等人(1984年) Nature 314:452。

【0071】構築人源化抗體的方法也是本領域熟知的。參見，例如，Queen等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86:10029-10033 (1989年)。於一實施例中，依照本領域已知之方法，對親本非人抗體的V_H及V_L的可變區進行立體分子模型分

析。接著，使用相同的分子模型分析來鑑定預測對正確的CDR結構的形成重要的框架胺基酸殘基。平行地，使用親本V_H及V_L序列作為搜索查詢，從任何抗體基因資料庫中鑑定具有與親本非人類抗體的胺基酸序列同源的胺基酸序列的人類V_H及V_L鏈。然後選擇人類V_H及V_L受體基因。

【0072】 所選擇的人類受體基因內的CDR區域可被來自親本非人類抗體或其功能變體的CDR區域所替代。必要時，可使用預計在與CDR區域相互作用中具有重要作用的親本鏈框架區域內的殘基(參見上述說明)以取代人類受體基因中的相應殘基。

【0073】 透過連接編碼重鏈可變區的核苷酸序列與編碼輕鏈可變區的核苷酸序列，可以透過重組技術製備單鏈抗體。較佳地，在二個可變區之間併入柔性連接子。或者，描述用於生產單鏈抗體之技術(美國專利第4,946,778號與第4,704,692號)可適用於產生噬菌體或酵母菌scFv文庫以及對一MUC18具有特異性之scFv選殖株，其可依照常規程序從文庫中鑑定出。可對陽性選殖株進行進一步篩選以鑑定出抑制MUC18活性者。

【0074】 可以使用本領域熟知的方法對遵循本領域已知的方法及本文所述之方法所獲得之抗體進行確定特徵。例如，其中一種方法為鑑定抗原所結合之抗原決定位或「抗原決定位作圖」。本領域已知之許多方法用於測定及確定蛋白質上的抗原決定位之位置特徵，包括解決抗體-抗原錯合物結晶結構、競爭測定、基因片段表現測定，以及基於合成胜肽之測定，例如，如Harlow與Lane，Using Antibodies，a Laboratory Manual，冷泉港實驗室出版社，冷泉港，紐約，1999年，一書第11章所述者。於另一實施例中，抗原決定位作圖可用於確定抗體結合的序列。該抗原決定位可為線性抗原決定位，即，包含在單鏈胺基酸中，

或由不一定包含在單鏈(主要結構線性序列)中的胺基酸之立體相互作用形成的構象抗原決定位。可以分離或合成(重組地)不同長度(例如，至少4-6個胺基酸長)的胜肽，並用於與一抗體的結合分析。於另一個實施例中，該抗體結合的抗原決定位可透過使用衍生自目標抗原序列的重疊胜肽在系統篩選中確定，並以該抗體確定結合。根據該基因片段表現分析，編碼目標抗原的開放閱讀框架隨機地或透過特異性遺傳構築進行片段化，並確定抗原表現的片段與待測抗體的反應性。基因片段可以，例如，透過PCR產生，然後在放射性胺基酸存在下在體外轉錄並轉譯為蛋白質。然後透過免疫沉澱與凝膠電泳分析抗體與放射性標記的抗原片段之結合。還可透過使用噬菌體顆粒表面上顯示的大量隨機胜肽序列庫(噬菌體文庫)來鑑定某些抗原決定位。或者，可以在簡單結合分析中測試定義的重疊胜肽片段文庫與測試抗體之結合。於另外的實施例中，可以進行抗原結合結構域之誘變、結構域交換實驗，以及丙胺酸掃描誘變，以鑑定抗原決定位結合所需的、足夠的，及/或必需之殘基。例如，可以使用目標抗原的突變體進行結構域交換實驗，其中MUC18多胜肽的各個片段已被來自緊密相關但抗原性不同之蛋白質的序列替換(交換)。透過評估抗體與突變體MUC18的結合，可以評估特定抗原片段對抗體結合之重要性。

【0075】 或者，競爭分析可以使用已知結合相同抗原的其它抗體來進行，以確定抗體是否与其它抗體結合在相同的抗原決定位上。競爭分析為本領域技術人員所周知的。

【0076】 於一些實施例中，抗MUC18抗體透過如下所例示之重組技術製備。

【0077】 編碼如本文所述之抗MUC18抗體的重鏈與輕鏈的核酸可以選殖至一個表現載體中，每個核苷酸序列可操作地連接到合適的啟動子。於一實施例中，編碼重鏈與輕鏈的每個核苷酸序列可操作地連接到不同的啟動子。或者，編碼重鏈與輕鏈的核苷酸序列可以與單個啟動子可操作地連接，使得重鏈與輕鏈都可由相同的啟動子表現。必要時可在重鏈與輕鏈編碼序列之間插入內部核糖體進入位點(internal ribosomal entry site，IRES)。

【0078】 於一些實施例中，編碼抗體兩條鏈的核苷酸序列被選殖到二個載體中，其可以被引入至相同或不同的細胞中。當兩條鏈在不同的細胞中表現時，每一條都可以從表現該鏈的宿主細胞中分離出來，並將分離的重鏈與輕鏈混合且在允許形成抗體的合適條件下培養作用。

【0079】 通常，使用本領域已知之方法，可以將編碼一抗體的一或所有鏈的核酸序列選殖到與合適的啟動子可操作地連接之合適的表現載體中。例如，核苷酸序列與載體可以在合適的條件下與限制酶接觸，以在每個分子上產生互補末端，其可以彼此配對並以連接酶連接在一起。或者，合成的核酸連接子可以連接到基因的末端。這些合成的連接子含有對應於載體中特定限制酶位點的核酸序列。表現載體/啟動子的選擇取決於用於產生抗體的宿主細胞之類型。

【0080】 多種啟動子可被用於如本文所述之抗體的表現，包括，但不限於，巨細胞病毒(CMV)中間體早期啟動子、一種病毒LTR，例如勞斯肉瘤(*Rous sarcoma*)病毒LTR、HIV-LTR、HTLV-1 LTR、猿猴病毒40 (SV40)早期啟動子、大腸桿菌 lac UV5啟動子，以及單純疱疹病毒啟動子。

【0081】 亦可使用可調節之啟動子。這些可調節的啟動子包括使用來自大腸桿菌的lac抑制物作為轉錄調節劑，以調節來自帶有lac操縱子之哺乳動物細胞

啟動子的轉錄物[Brown, M.等人，Cell，49：603-612 (1987年)]，使用四環黴素抑制物(tetR)的那些[Gossen, M.與Bujard, H.，Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89：5547-5551 (1992年)；Yao, F. 等人，Human Gene Therapy，9：1939-1950 (1998年)；Shockelt, P.等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA，92：6522-6526 (1995年)]。其他系統包括FK506二元體、VP16，或p65，使用天竺葵醇、RU486、二苯酚莽草酮，或雷帕黴素。可誘導的系統可獲自Invitrogen、Clontech以及Ariad公司。

【0082】 可以使用含有帶有操縱子之抑制物的可調節啟動子。於具體實施例中，來自大腸桿菌的lac抑制物可作為轉錄調節劑，以調節來自具有lac操縱子的哺乳動物細胞啟動子之轉錄[M. Brown等人，Cell，49：603-612 (1987年)]；Gossen與Bujard (1992年)；[M. Gossen等人，Natl. Acad. Sci. USA，89：5547-5551 (1992年)]將四環黴素抑制物(tetR)與轉錄活化劑(VP16)組合以產生tetR-哺乳動物細胞轉錄活化劑融合蛋白，tTa (tetR-VP16)，帶有源自人類巨細胞病毒(hCMV)的主要即時早期啟動子之攜帶有tetO的最小啟動子，以產生用於控制哺乳動物細胞中的基因表現的tetR-tet操縱子系統。於一具體實施例中，使用四環黴素誘導型轉換。當四環黴素抑制物(tetR)單獨，而非tetR-哺乳動物細胞轉錄因子融合衍生物，可以作為有效的反式調節劑，以調節哺乳動物細胞中的基因表現，當四環黴素操縱子適當地位於CMVIE啟動子的TATA元件的下游時(Yao等人，Human Gene Therapy)。這種四環黴素誘導型轉換的一個特別的優點是不需使用四環黴素抑制物-哺乳動物細胞反式活化劑或抑制物融合蛋白，其於一些情況下可能對細胞具有毒性(Gossen 等人，Natl. Acad. Sci. USA，89：5547-5551 (1992年)；Shockett 等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA，92：6522-6526 (1995年))，以實現其可調節之作用。

【0083】此外，載體可以包含，例如，以下的一些或全部：選擇性標記基因，例如用於在哺乳動物細胞中選擇穩定或瞬間轉染子的新黴素基因；用於高量轉錄之來自人類CMV的即時早期基因之增強子/啟動子序列；用於mRNA穩定性之來自SV40的轉錄終止與RNA加工訊息；用於適合的附加型複製之SV40多瘤複製起始點與ColE1；內部核糖體結合位點(IRESes)、多樣化多選殖位點；以及用於體外轉錄正義與反義RNA之T7及SP6 RNA啟動子。用於生產含有轉基因的載體的合適之載體及方法為本領域所公知且可被使用的。

【0084】可用於實施本文所述之方法之聚腺苷酸化訊息的實施例包括，但不限於，人類膠原蛋白I聚腺苷酸化訊息、人類膠原蛋白II聚腺苷酸化訊息，以及SV40聚腺苷酸化訊息。

【0085】可將包含編碼任何該抗體之核酸的一或多種載體(例如，表現載體)引入合適的宿主細胞中以產生抗體。宿主細胞可以在合適的條件下培養以表現抗體或其任何多胜肽鏈。這些抗體或其多胜肽鏈可透過常規方法，例如，親和性純化，而由培養的細胞(例如，來自細胞或培養物上清液)回收。如果需要，抗體的多胜肽鏈可以在合適的條件下培養合適的一段時間，以使其產生抗體。

【0086】於一些具體實施例中，如本文所述之用於製備抗體的方法涉及編碼抗MUC18抗體的重鏈與輕鏈兩者的重組表現載體，亦如本文所述者。可透過常規方法，例如，磷酸鈣調節的轉染作用，將重組表現載體引入合適的宿主細胞(例如，dhfr-CHO細胞)中。可在合適的條件下選擇及培養陽性轉化體宿主細胞，進而允許形成抗體的兩條多胜肽鏈之表現，其可以從細胞或培養基中回收。必要時，從宿主細胞回收的兩條鏈可以在允許形成抗體之合適條件下培養作用。

【0087】於一實施例中，提供了二個重組表現載體，一個編碼抗MUC18抗體之重鏈，另一個編碼抗MUC18抗體之輕鏈。可透過常規方法，例如，磷酸鈣調節的轉染作用，將二種重組表現載體導入合適的宿主細胞(例如，dhfr-CHO細胞)中。或者，可將每個表現載體引入合適的宿主細胞中。可在允許表現抗體多胜肽鏈的合適條件下選擇並培養陽性轉化體。當二個表現載體被引入相同的宿主細胞時，其中產生的抗體可以從宿主細胞或培養基中回收。如果需要，可以從宿主細胞或培養基中回收多胜肽鏈，然後在允許形成抗體的合適條件下培養作用。當二個表現載體被引入不同的宿主細胞時，它們之中的每一個可以從相應的宿主細胞或相應的培養基中回收。然後可以在合適的條件下培養作用該二條多胜肽鏈以形成抗體。

【0088】使用標準分子生物學技術來製備重組表現載體、轉染宿主細胞、選擇轉化體、培養宿主細胞並從培養基中回收抗體。例如，可以透過蛋白A或蛋白G偶聯基質的親和性色層分析法分離一些抗體。

【0089】編碼如本文所述之抗MUC18抗體的重鏈、輕鏈或二者的任何核酸，含有此類抗體的載體(例如，表現載體)；以及包含該載體之宿主細胞皆在本發明之範圍內。

抗體-藥物結合物

【0090】本發明內容還提供了包含本文所述之任何抗MUC18抗體的抗體-藥物結合物，其與治療劑共價連接。本文所用之「抗體-藥物結合物」或「ADC」等詞係指一結合物，其中本文所述之抗MUC18抗體以及治療劑共價連接。通常，該抗體-藥物結合物可以包括該抗MUC18抗體、該治療劑，以及可視需要地介於該抗體與該治療劑之間的連接子。透過將治療劑遞送至抗體作為標靶的MUC18⁺

細胞，具體而言是MUC18⁺癌細胞，該ADC可以提高治療效果。該抗體-藥物結合物可透過本領域已知的多種製備抗體-藥物結合物之方法來製備。

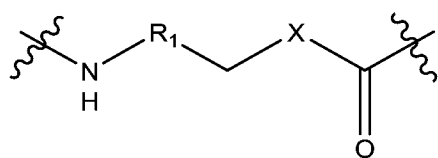
【0091】 本文所述之ADC中的治療劑可為毒素、化學治療劑、抗生素、ADP-核糖基轉移酶、放射性同位素或溶核酶。於某些情況下，該治療劑為一細胞毒性劑。示例包括，但不限於，蔥環類、奧利他汀(auristatin)(例如，奧利他汀E，或單甲基奧利他汀E (monomethyl auristatin E，MMAE)))、喜樹鹼、康普他汀(combretastatin)、多拉司他汀(dolastatin)、倍癌黴素(duocarcincin)、烯二炔、格爾德黴素(geldanamycin)、吡啶-苯二氮雜二元體、美登素(maytansine)、嘌呤黴素、吡咯並苯二氮雜二元體、紫杉烷、長春花生物鹼、微管溶素、半胱胺酸、剪枝抑素、普拉二烯內酯，以及加利車黴素(calicheamicin)。

【0092】 於一些具體實施例中，該抗MUC18抗體與該治療劑透過連接子連接。這樣的連接子可為可裂解的連接子，例如，於一定pH條件下可裂解(pH敏感的連接子)，可被蛋白酶裂解(蛋白酶敏感的連接子)，或在麩胱甘肽存在下可裂解(對麩胱甘肽敏感的連接子)。於一些實施例中，該連接子包含蛋白酶切割位點，其可包含2-5個胺基酸殘基，其可被合適的蛋白酶識別及/或切割。這樣的胜肽可包含天然存在的胺基酸殘基、非天然存在的胺基酸殘基或其組合。於一實施例中，該胜肽連接子可為二胜肽連接子。實施例包括纈胺酸-瓜胺酸(val-cit)連接子、苯丙胺酸-離胺酸(phe-lys)連接子，或馬來醯亞胺基己二酸-纈胺酸-瓜胺酸-對胺基苄氧基羰基(vc)連接子。可選擇地，該連接子可為不可裂解的，例如，包含可視需要經取代的烷烴或硫醚的連接子。

【0093】 於一些實施例中，該連接子可包含可與該抗體形成共價鍵的官能基團。示例性的官能基團包括，但不限於，馬來醯亞胺基、碘乙醯胺基、乙烯

基磺基、丙烯酸酯基、丙烯醯胺基、丙烯腈基，或甲基丙烯酸酯基。於一些情況下，該連接子可包含一種或多種反應性胺，包括，但不限於，乙醯基-離胺酸-纈胺酸-瓜胺酸-對胺基苄氧基羰基(AcLys-VC-PABC)或胺基PEG6-丙醯基。參見，例如，PCT專利公開號WO2012/059882。其他示例性的連接子包括磺基琥珀醯亞胺基-4-[N馬來醯亞胺甲基]環己烷-1-甲酸(Sulfosuccinimidyl-4-[Nmaleimidomethyl]cyclohexane-1-carboxylate, smcc)。磺基-smcc的共軛反應係透過馬來醯亞胺基進行的，該基團與巰基(硫醇，-SH)反應，而其磺基-NHS酯則對伯胺具有反應性(在離胺酸與蛋白質或胜肽N端中發現)。

【0094】於一些實施例中，該連接子可包含一分子間隔基，例如式I的部分：



分：，其中R₁可為可視需要經取代的C₁₋₆烷基(例如，C₁₋₃烷基)，可視需要經取代的苯基，可視需要經取代的C₂₋₆亞烷基，可視需要經取代的C₂₋₆亞烯基，可視需要經取代的C₂₋₆亞炔基，或可視需要經取代的三唑；及/或X可為O、S或N。

【0095】將細胞毒劑或其他治療劑與抗體結合的方法為本領域已知的，並且已在各種出版物中描述。例如，可透過離胺酸側鏈胺或透過為結合反應發生而還原鏈間二硫鍵而活化的半胱胺酸巰基對抗體進行化學修飾。參見，例如，Tanaka等人，FEBS Letters 579:2092-2096，(2005年)，以及Gentle等人，Bioconjug. Chem. 15:658-663 (2004年)。還描述了在抗體的特定定位點工程化的反應性半胱胺酸殘基，用於透過定義的化學計量比進行特異性藥物偶聯。參見，例如，Junutula等人，Nature Biotechnology, 26:925-932，(2008年)。在PCT專利公開號WO2012/059882、Strop等人Chem. Biol. 20(2):161-167 (2013年)，以及Farias等人，

Bioconjug. Chem. 25(2):245-250 (2014年)中也描述了使用在轉麩醯胺酸酶以及胺(例如,以反應性胺修飾的細胞毒性劑)存在下透過多胜肽工程化而使之具有醯基供體的含麩醯胺標籤及/或內源性麩醯胺的結合。出於參考目的及主題,將這些出版物的相關公開內容透過引用併入本文。

嵌合抗原受體(CAR)與表現這種受體的免疫細胞

【0096】 本發明內容的特徵還在於以MUC18為標靶的嵌合抗原受體以及表現該受體的免疫細胞。本文所公開的嵌合抗原受體(CARs)為人造細胞表面受體,其將表現這種受體的免疫細胞(例如,T細胞)的結合特異性重定向至MUC18⁺細胞,例如上皮來源的癌細胞,進而透過例如,該免疫細胞的效應子活性來消除目標疾病細胞。CAR構築體通常包含至少與細胞內訊息傳遞結構域融合的胞外抗原結合結構域。Cartellieri等人,J Biomed Biotechnol 2010: 956304, 2010年。該胞外抗原結合結構域可為單鏈抗體片段(scFv),對MUC18抗原具有特異性,且細胞內訊息傳遞結構域可以調節導致免疫細胞活化的細胞訊息傳遞。如此,表現對MUC18具有特異性的CAR構築體的免疫細胞可與表現MUC18的患病細胞(例如,腫瘤細胞)結合,導致免疫細胞的活化與患病細胞的消除。

【0097】 本文所述之任何抗MUC18抗體均可用於產生本文所述之CAR構築體。例如,可使用常規重組技術將抗MUC18抗體的V_H及V_L結構域融合至細胞內訊息傳遞結構域以產生CAR構築體。於一些實施例中,抗MUC18的V_H及V_L結構域透過胜肽連接子連接以形成scFv片段。

【0098】 本文公開之CAR構築體可包含一或多個細胞內訊息傳遞結構域。於一些實施例中,CAR包含細胞內訊息傳遞結構域,其包括基於免疫受體酪胺酸的活化基序(immunoreceptor tyrosine-based activation motif, ITAM)。這樣

的細胞內訊息傳遞結構域可來自CD3 ξ 。另外，該CAR構築體可進一步包含一或多個共刺激訊息傳遞結構域，其可來自一共刺激受體，例如4-1BB (CD137)、CD7、CD27、CD28、CD40、OX40、ICOS、GITR、HVEM、TIM1，或LFA-1。

【0099】 本文公開之CAR構築體可進一步包含跨膜鉸鏈結構域，其可獲自合適的細胞表面受體，例如CD28或CD8。

【0100】 還提供編碼本文公開之任何抗-MUC18 CARs的分離的核酸分子及載體，以及包含該核酸分子或載體的宿主細胞，例如宿主免疫細胞(例如，T細胞以及天然殺手細胞)。包含MUC18特異性抗體結合片段的表現抗MUC18 CARs的免疫細胞可用於治療表現MUC18的癌症。因此，本文還提供了透過選擇患有表現MUC18的癌症的個體，並對該個體施用一治療有效量的表現以MUC18為標靶的CARs的免疫細胞來治療該患有MUC18⁺癌症的個體之方法。

醫藥組合物

【0101】 如本文所述，抗MUC18抗體、編碼之核酸或核酸組、含有這些之載體，或包含該載體的宿主細胞，以及包含該抗MUC18抗體的ADCs，及/或表現以MUC18為標靶的CARs的免疫細胞，可與醫藥上可接受之載劑(賦形劑)混合，以形成用於治療目標疾病的醫藥組合物。「可接受」係指載劑必須與組合物的活性成分(優選地，能夠穩定活性成分)相容，且對待治療之對象無害。醫藥上可接受之賦形劑(載劑)，包括本領域熟知的緩衝液。參見，例如，Remington：The Science and Practice of Pharmacy 第20版 (2000年) Lippincott Williams and Wilkins出版社，K. E. Hoover編輯。

【0102】 用於本發明方法之醫藥組合物可包含凍乾製劑或水溶液形式的醫藥上可接受之載劑、賦形劑或穩定劑。(Remington：The Science and Practice of

Pharmacy 第20版 (2000年) Lippincott Williams and Wilkins出版社，K. E. Hoover 編輯)。可接受的載劑、賦形劑或穩定劑所使用的劑量及濃度對受體無毒，並可包含緩衝液，例如，磷酸鹽、檸檬酸鹽，以及其它有機酸；抗氧化劑，包括抗壞血酸與甲硫胺酸；防腐劑(例如，十八烷基二甲基苄基氯化銨；六氯化銨；苯扎氯銨，苄索氯銨；苯酚，丁基或苄醇；對羥基苯甲酸烷基酯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；間甲酚)；低分子量(小於約10個殘基)多肽；蛋白質，如，血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，如聚乙烯吡咯烷酮；胺基酸，如甘胺酸、谷胺醯胺、天冬醯胺、組胺酸、精胺酸或離胺酸；單醣、二糖以及其他碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或葡聚醣；螯合劑，如EDTA；糖類，如蔗糖、甘露糖醇、海藻糖，或山梨糖醇；鹽形成的抗衡離子，如鈉；金屬錯合物(例如，Zn-蛋白錯合物)；及/或非離子介面活性劑，如TWEEN™、PLURONICS™或聚乙二醇(PEG)。

【0103】於一些實施例中，如本文所述之醫藥組合物包括含有可透過本領域已知之方法製備的抗體(或編碼核酸，或該ADCs)的脂質體，如Epstein等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82：3688 (1985年)；Hwang等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77：4030 (1980年)；以及美國專利第4,485,045號以及第4,544,545號。具有增強的循環時間之脂質體被描述於美國專利第5,013,556號。特別有用的脂質體可透過含有磷脂醯膽鹼、膽固醇以及PEG-衍生的磷脂醯乙醇胺(PEG-PE)的脂質組合物的反相蒸發法產生。脂質體透過規定的孔徑的過濾器擠出，以產生具有所需直徑之脂質體。

【0104】抗體、編碼核酸，或該ADCs也可包埋在微膠囊中，該微膠囊透過，例如，凝聚技術或界面聚合分別製備，例如，羥甲基纖維素或明膠微膠囊

以及聚-(甲基丙烯酸甲酯)微膠囊，在膠體藥物遞送系統(例如，脂質體、白蛋白微球、微乳液、奈米顆粒，以及奈米膠囊)或在大量乳液中。這些技術為本領域已知的，參見，例如，Remington, The Science and Practice of Pharmacy 第20版，Mack出版社(2000年)。

【0105】 在其它實施例中，如本文所述之醫藥組合物可以緩釋形式配製。持續釋放製劑的合適實施例包括，含有抗體的固體疏水性聚合物的半透性基質，該基質為成形製品，例如，薄膜或微膠囊形式。持續釋放基質的實施例包括聚酯、水凝膠(例如，聚(2-羥乙基 - 甲基丙烯酸酯)或聚(乙烯醇))、聚交酯(美國專利第3,773,919號)、L-谷胺酸與7-乙基-L-谷胺酸鹽共聚物、無法降解之乙烯-乙酸乙烯酯、可降解之乳酸-乙醇酸共聚物，例如，LUPRON DEPOT™ (由乳酸-乙醇酸共聚物與醋酸亮丙瑞林組成的可注射微球體)、蔗糖乙酸異丁酸酯，以及聚-D(-)-3-羥基丁酸。

【0106】 用於體內給藥的醫藥組合物必須為無菌的。這透過，例如，透過無菌過濾膜過濾而容易被實現。治療性抗體組合物通常放置在具有無菌入口的容器中，例如，具有可被皮下注射針刺穿之瓶塞的靜脈內溶液袋或小瓶。

【0107】 如本文所述之醫藥組合物可以為單位劑型，例如，用於口服、腸胃外或直腸給藥的片劑、丸劑、膠囊、粉末、顆粒、溶液或懸浮液或栓劑，或透過吸入或吹入給藥。

【0108】 為了製備固體組合物，如片劑，可將主要活性成分與醫藥載劑混合，例如，常規壓片成分，如玉米澱粉、乳糖、蔗糖、山梨糖醇、滑石、硬脂酸、硬脂酸鎂、磷酸二鈣或樹膠，以及其它醫藥稀釋劑，例如水，以形成含有本發明化合物或其無毒的醫藥上可接受之鹽的均勻混合物的固體預處理組合

物。當將這些預製組合物稱為均勻時，是指活性成分均勻地分散在整個組合物中，使得組合物可以容易地分成同樣有效的單位劑型，例如片劑、丸劑，以及膠囊劑。然後將該固體預製組合物細分為上述類型的單位劑量，其含有0.1至約500 mg本發明的活性成分。新組合物的片劑或丸劑可以被包衣或以其它方式化合，以提供具有延長作用的優點之劑型。例如，片劑或丸劑可包含內部劑量與外部劑量組分，後者是在前者上的封套之形式。二個組分可以被腸溶層分開，其用於抵抗在胃中的崩解，並允許內部組分完整地進入十二指腸或被延遲釋放。有許多材料可被用於這種腸溶層或塗層，這些材料包括許多聚合酸以及聚合酸與蟲膠、鯨蠟醇以及乙酸纖維素等材料的混合物。

【0109】 合適的介面活性劑特別包括非離子試劑，例如，聚氧乙烯脫水山梨糖醇(例如，Tween™ 20、40、60、80或85)以及其它脫水山梨糖醇(例如，Span™ 20、40、60、80或85)。具有介面活性劑的組合物將方便地包含0.05至5%的介面活性劑，並可在0.1至2.5%之間。應當理解的是，如果需要，可以加入其它成分，例如，甘露醇或其它醫藥上可接受的載劑。

【0110】 合適的乳劑可使用市售之脂肪乳劑製備，例如，Intralipid™、Liposyn™、Infonutrol™、Lipofundin™，以及Lipiphysan™。活性成分可溶解在預混合乳液組合物中，或可溶解在油中(例如，黃豆油、紅花油、棉籽油、芝麻油、玉米油或杏仁油)，且混合後形成的乳液與磷脂(例如，卵磷脂、黃豆磷脂或黃豆卵磷脂)及水。應當理解的是，可以加入其它成分，例如，甘油或葡萄糖，以調節乳液的張力。合適的乳液通常含有高達20%的油，例如，5至20%。

【0111】 乳液組合物可為透過將抗體與Intralipid™或其組分(黃豆油、卵磷脂、甘油及水)混合而製成。

【0112】 用於吸入或吹入之醫藥組合物包括在醫藥上可接受的水性或有機溶劑，或其混合物與粉末中的溶液及懸浮液。液體或固體組合物可含有如上所述之合適的醫藥上可接受的賦形劑。於一些具體實施例中，組合物透過口服或鼻呼吸途徑施用以獲得局部或全身效應。

【0113】 較佳之無菌醫藥上可接受的溶劑中的組合物可透過使用氣體進行霧化。噴霧溶液可直接從噴霧裝置呼吸，或霧化裝置可附著至面罩、帳篷或間歇正壓呼吸機上。溶液、懸浮液或粉末組合物可從以適當之方式遞送製劑的裝置施用，較佳為口服或鼻腔給藥。

治療與診斷方法

【0114】 如本文所述，任何抗MUC18抗體、編碼核酸或核酸組、包含該核酸的載體、包含抗MUC18抗體的ADCs，以及表現以MUC18為標靶的CARs的免疫細胞(例如，T細胞或NK細胞)，可用於抑制及/或消除MUC18⁺疾病細胞，例如MUC18⁺癌細胞，進而有益於治療與MUC18⁺疾病細胞相關的疾病或病症。

【0115】 為了實施本文公開之方法，可以將有效量的如本文所述之醫藥組合物施用於需要經由合適途徑進行治療的個體(例如，人類)，合適途徑，例如，靜脈內給藥，例如，透過一段時間的推注或連續輸注，透過肌肉內、腹膜內、腦脊髓內、皮下、關節內、滑膜內、鞘內、口服、吸入或局部途徑。用於液體製劑的市售噴霧器，包括噴射式噴霧器以及超音波霧化器對於給藥是有用的。液體製劑可以直接霧化，且凍乾粉末可以在重建後霧化。或者，如本文所述之抗體可使用氟碳製劑與一計量劑量吸入器霧化，或作為凍乾及研磨的粉末吸入。

【0116】 透過本文描述之方法治療的個體可為哺乳動物，更佳為人類。哺乳動物包括，但不限於，農場動物、運動動物、寵物、靈長類動物、馬、狗、

貓、小鼠，以及大鼠。需要治療的人類個體可為患有、處於危險之中，或被懷疑患有與MUC18⁺疾病細胞相關的目標疾病/病症的人類患者。於一些具體實施例中，MUC18⁺疾病細胞為癌細胞，例如上皮癌細胞(即，衍生自上皮細胞)。實施例包括，但不限於，卵巢癌細胞、乳腺癌細胞、腎癌細胞、肺癌細胞、結腸直腸癌細胞，以及腦癌細胞。可透過常規醫學檢查，例如實驗室檢查、器官功能檢查、電腦斷層掃描，或超音波來鑑定具有目標疾病或病症的對象。懷疑患有任何此類目標疾病/病症的個體可能顯示出該疾病/病症的一或多種症狀。具有疾病/病症風險的個體可為具有該疾病/病症的一或多種風險因素的個體。

【0117】 如本文所用，「有效量」係指對個體賦予治療效果所需的每種活性劑的量，不論是單獨或組合地與一或多種其它活性劑施用。於一些具體實施例中，治療效果為降低MUC18活性或MUC18⁺細胞的活性。確定抗體或包含抗體或抗體的其他治療劑(例如，ADC或CAR-T細胞)的量是否達到治療效果對於本領域技術人員而言是顯而易見的。如本領域技術人員所認識的，有效量根據所治療的特定病症、病症的嚴重程度，包括年齡、身體狀況、大小、性別，以及體重的個體患者參數、治療持續時間、並發治療的性質(如果有)、具體的給藥途徑，以及衛生從業人員的知識及專長內的類似因素。這些因素為本領域普通技術人員眾所周知的，並且僅透過常規實驗即可解決。通常較佳使用單個組分或其組合的最大劑量，即根據合理醫學判斷的最高安全劑量。

【0118】 經驗上的考量，如半衰期，通常會有助於劑量的確定。例如，可使用與人類免疫系統相容之抗體(例如，人源化抗體或全人類抗體)來延長抗體之半衰期，並防止抗體被宿主的免疫系統攻擊。可在治療過程中確定並調整施用頻率，且通常，但不是必需，基於目標疾病/病症的治療及/或抑制及/或改善及/

或延遲。或者，抗體的持續連續釋放製劑可能是合適的。用於實現持續釋放的各種製劑及裝置為本領域已知的。

【0119】 於一實施例中，如本文所述之抗體的劑量可以在施用一或多種抗體的個體中依照經驗來確定。給予個體增量之劑量的拮抗劑。為了評估拮抗劑之功效，可以遵循疾病/病症的指標。

【0120】 通常，為了施用如本文所述之任何抗MUC18抗體或包含這些抗體的ADCs，初始候選劑量可為約2 mg/kg。為了本發明之目的，典型的日劑量可為0.1 µg/kg至3 µg/kg至30 µg/kg至300 µg/kg至3 mg/kg、至30 mg/kg至100 mg/kg以上，取決於上述因素。對於幾天或更長時間的反覆給藥，取決於病症，治療持續到發生所需之症狀抑制，或達到足夠的治療程度以減輕目標疾病或病症或其症狀為止。示例性的給藥方案包含施用約2 mg/kg的初始劑量，隨後每周維持劑量為約1 mg/kg的抗體，或每隔一周施用約1mg/kg的維持劑量。然而，其他劑量方案可能是有用的，這取決於從事者希望實現的藥物動力學衰變之模式。例如，預期每週四次給藥。於一些具體實施例中，給藥範圍為約3 µg/mg至約2mg/kg (例如，約3 µg/mg、約10 µg/mg、約30 µg/mg、約100 µg/mg、約300 µg/mg、約1 mg/kg，以及約2 mg/kg)。於一些具體實施例中，給藥頻率為每週一次、每2週、每4週、每5週、每6週、每7週、每8週、每9週或每10週一次；或每月一次、每2個月、或每3個月或更長時間。透過常規技術與測定法容易監測該療法之進展。給藥方案(包括使用之抗體)可隨時間變化。

【0121】 為了本發明之目的，如本文所述之抗體的合適劑量將取決於所使用的特異性抗體、抗體及/或非抗體胜肽(或其組合物)，疾病/病症的類型以及嚴重程度、是否為預防或治療目的施用抗體、先前的治療、患者的臨床病史及對

拮抗劑的反應，以及主治醫師之判斷。通常，臨床醫師將施用抗體，直到達到期望結果之劑量。於一些具體實施例中，期望的結果為血栓形成的減少。確定劑量是否導致所需結果的方法對於本領域技術人員將是顯而易見的。一或多種抗體的施用可為連續的或間歇的，這取決於，例如，接受者的生理狀況、施用之目的為治療性或是預防性的，以及熟練之從事者已知的其它因素。抗體的施用可以在預選的時間段內基本上連續的，或者可為一系列間隔之劑量，例如，在目標疾病或病症發展之前、期間或之後。

【0122】 如本文所用，「治療」乙詞係指包括一或多種活性劑的組合物應用或施用於個體，該個體患有目標疾病或病症、疾病/病症之症狀，或對該疾病/病症的傾向，且其目的為治癒、治療、緩解、減輕、改變、補救、改善、增進，或影響疾病、疾病症狀，或對該疾病或病症之傾向。

【0123】 緩解目標疾病/病症包括延緩疾病的發展或進展，或降低疾病嚴重程度。緩解疾病並不一定需要治療結果。如其中所使用的，「延遲」目標疾病或病症的發展意指推遲、阻止、緩慢、妨礙、穩定，及/或延緩疾病進展。這樣的延遲可為不同的時間長度，這取決於疾病之歷史及/或被治療之個體。一種「延遲」或減輕疾病發展，或延緩疾病發病的方法，為減少在給定時間內發展一或多種疾病症狀的可能性，及/或在給定的時間框架內減少症狀程度的方法，與未使用該方法者進行比較。這種比較通常基於臨床研究，使用足以給出統計學顯著結果的多個個體。

【0124】 疾病的「發展」或「進展」意指疾病的初始表現及/或隨後的進展。可使用本領域熟知的標準臨床技術檢測並評估疾病之發展。然而，發展亦指可能無法檢測的進展。為了本發明之目的，發展或進展係指該症狀的生物學過程。

「發展」包括發生、復發及發病。如本文所用，目標疾病或病症的「發作」或「發生」包括初始發作及/或復發。

【0125】於一些具體實施例中，如本文所述之抗體以足以將一或二種目標抗原的活性抑制至少20% (例如，30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更高)的量，施用於需要治療之個體。在其它具體實施例中，該抗體以有效將一種目標抗原的活性程度降低至少20% (例如30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%以上)。

【0126】醫學領域的普通技術人員已知的常規方法，可用於根據待治療的疾病的類型或疾病的部位，而向個體施用醫藥組合物。該組合物亦可透過其它常規途徑施用，例如，口服、腸胃外、透過吸入噴霧、局部性、直腸、鼻腔、口腔、陰道，或經由植入的儲庫給藥。本文所用之「腸胃外」乙詞包括皮下、皮內、靜脈內、肌內、關節內、動脈內、滑膜內、胸骨內、鞘內、腦內，以及顱內注射或輸注技術。此外，其可透過可注射的貯庫途徑施用於個體，例如使用1-、3-或6個月儲存罐注射或可生物降解的材料及方法。於一些實施例中，該醫藥組合物在眼內或玻璃體內施用。

【0127】可注射的組合物可含有各種載劑，如植物油、二甲基乳醯胺、二甲基甲醯胺、乳酸乙酯、碳酸乙酯、肉荳蔻酸異丙酯、乙醇，以及多元醇(甘油、丙二醇、液體聚乙二醇及其類似物)。對於靜脈注射，可透過滴注法施用水溶性抗體，由此輸入含有抗體及生理學上可接受之賦形劑的醫藥製劑。生理上可接受之賦形劑可包括，例如，5%葡萄糖、0.9%鹽水、林格氏溶液，或其它合適的賦形劑。可將肌肉注射製劑，例如，抗體的合適的可溶性鹽形式的無菌製劑溶解，並施用醫藥賦形劑，例如注射用水、0.9%鹽水或5%葡萄糖溶液。

【0128】 於一具體實施例中，透過位點特異性或目標局部遞送技術施用抗體。位點特異性或目標局部遞送技術的實施例包括，該抗體的各種可植入式儲庫來源或局部遞送導管，例如輸注導管、留置導管或針導管、合成移植物、外膜包裹物、分流器和支架或其它可植入裝置、位點特異性載劑、直接注射，或直接應用。參見，例如，PCT公開號WO 00/53211以及美國專利第5,981,568號。

【0129】 還可使用含有反義多核苷酸、表現載體或次基因組多核苷酸的治療組合物之目標遞送。受體調節的DNA遞送技術被描述於，例如，Findeis等人，Trends Biotechnol. (1993年) 11 : 202 ; Chiou等人，Gene Therapeutics : Methods And Applications Of Direct Gene Transfer (J. A. Wolff 編輯)(1994年) ; Wu 等人，J. Biol. Chem. (1988年) 263 : 621 ; Wu等人，J. Biol. Chem. (1994年) 269 : 542 ; Zenke等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1990年) 87 : 3655 ; Wu等人，J. Biol. Chem. (1991年) 266 : 338 。

【0130】 在基因治療方案中，含有多核苷酸(例如，編碼如本文所述之抗體的那些)的治療組合物在約100 ng至約200 mg的DNA範圍內施用，以進行局部給藥。於一些具體實施例中，亦可在基因治療方案中使用約500 ng至約50 mg、約1 µg至約2 mg、約5 µg至約500 µg，以及約20 µg至約100 µg的DNA，或更多的濃度範圍。

【0131】 如本文所述之治療性多核苷酸及多胜肽可使用基因遞送載劑遞送。基因遞送載劑可為病毒或非病毒來源的(通常，參見，Jolly，Cancer Gene Therapy (1994年) 1:51 ; Kimura，Human Gene Therapy (1994年) 5 : 845 ; Connelly，Human Gene Therapy (1995年) 1 : 185 ; 以及Kaplitt，Nature Genetics (1994年) 6 :

148)。可使用內源哺乳動物或異源啟動子及/或增強子來誘導這些編碼序列的表現。編碼序列之表現可為組成型或調節型。

【0132】 用於遞送所需多核苷酸的病毒載體與在所需細胞中的表現為本領域熟知的。示例性的基於病毒的載劑包括，但不限於，重組逆轉錄病毒(參見，例如，PCT公開號WO 90/07936；WO 94/03622；WO 93/25698；WO 93/25234；WO 93/11230；WO 93/10218；WO 91/02805；美國專利第5,219,740號以及第4,777,127號；英國專利第2,200,651號，以及歐洲專利第0 345 242號)，基於甲病毒的載體(例如，辛德畢斯病毒載體、塞爾比奇森林病毒(ATCC VR-67；ATCC VR-1247)、羅氏河流病毒(ATCC VR-373；ATCC VR-1246)，以及委內瑞蘭馬腦炎病毒(ATCC VR-923；ATCC VR-1250；ATCC VR1249；ATCC VR-532))，以及腺相關病毒(AAV)載體(參見，例如，PCT公開號WO 94/12649、WO 93/03769；WO 93/19191；WO 94/28938；WO 95/11984，以及WO 95/00655)。亦可使用與滅活的腺病毒相連的DNA之施用，如Curiel，Hum. Gene Ther. (1992年) 3：147所述者。

【0133】 亦可使用非病毒遞送載劑及方法，包括，但不限於，與單獨殺死的腺病毒連接或未連接的聚陽離子縮合DNA(參見，例如，Curiel，Hum. Gene Ther. (1992年) 3：147)；配體連接的DNA (參見，例如，Wu，J. Biol. Chem. (1989年) 264：16985)；真核細胞遞送載劑細胞(參見，例如，美國專利第5,814,482號；PCT公開號WO 95/07994；WO 96/17072；WO 95/30763，以及WO 97/42338)以及核電荷中和或與細胞膜融合。亦可使用裸DNA。示例性的裸DNA引入方法如PCT公開號WO 90/11092以及美國專利第5,580,859號所述。可作為基因遞送載劑的脂質體則被描述於美國專利第5,422,120號；PCT公開號WO 95/13796；WO 94/23697；

WO 91/14445；以及歐洲專利第0524968號中。額外的方法被描述於Philip, Mol. Cell. Biol. (1994年) 14: 2411, 以及Woffendin, Proc. Natl. Acad. Sci. (1994年) 91: 1581。

【0134】 本文所述方法中使用的特定劑量方案，即劑量、時間，重複，將取決於特定個體及該個體的病史。

【0135】 當將一表現以MUC18為標靶的CAR的免疫細胞用於疾病治療時，可透過注入治療有效劑量的此類免疫細胞，例如T淋巴細胞或NK細胞，至每公斤體重約 10^5 至 10^{10} (個細胞/Kg)或更多細胞來治療患者。輸液重複的次數可根據患者的耐受性進行，直到達到所需的反應。適當的輸注劑量及時間表因患者而異，但可由治療醫師針對特定患者確定。通常，將注入大約 10^6 個細胞/Kg的初始劑量，升級到 10^8 個或更多細胞/Kg。IL-2可共同給藥以擴增輸注的細胞。IL-2的量約為每平方米體表 $1-5 \times 10^6$ 國際單位。

【0136】 於一些具體實施例中，可將一種以上的抗體或抗體與另一種合適的治療劑之組合施用於需要該治療的個體。該抗體、ADC及/或包含該ADC的CAR-T細胞也可與用於增強及/或補充該試劑效力的其他試劑聯合使用。

【0137】 可透過本領域公知的方法評估針對目標疾病/病症之治療功效。

【0138】 本文所述之任何抗MUC18抗體亦可用於檢測樣品中MUC18⁺細胞的存在或含量。這種診斷測定可在體外或體內進行。

【0139】 對於診斷用途，可將本文所述之抗MUC18抗體與可檢測的標記(例如，成像劑，例如，造影劑)結合，以用於體內或體外之診斷目的。如本文所用，「結合的」或「附接的」係指二個實體相關聯，較佳地具有足夠的親和力以實現兩個實體之間的關聯的治療/診斷益處。兩個實體之間的締合可為直接

的，亦可透過連接子，例如聚合物連接子。結合或附著可包括共價或非共價鍵以及其他形式的締合，例如包埋，例如，在另一實體上或在另一實體之內，或這二個實體其中之一或二者皆在一第三實體之上或之內，例如，微膠粒。

【0140】於一實施例中，如本文所述之抗MUC18抗體可附著於可檢測標記，該可檢測標記為能夠直接或間接釋放可檢測訊號之化合物，進而該配適體可於體外或體內被檢測、測量，及/或定性。這種「可檢測標記」的實例目的在於包括，但不限於，螢光標記、化學發光標記、比色標記、酶標記、放射性同位素，以及親和標記，如生物素。可透過常規方法將此類標記物直接或間接地結合至該配適體。

【0141】於一些具體實施例中，該可檢測標記為適合於體內對MUC18⁺細胞成像的試劑，其可為放射性分子、放射性藥物，或一氧化鐵顆粒。適用於體內成像的放射性分子包括，但不限於，¹²²I、¹²³I、¹²⁴I、¹²⁵I、¹³¹I、¹⁸F、⁷⁵Br、⁷⁶Br、⁷⁶Br、⁷⁷Br、²¹¹At、²²⁵Ac、¹⁷⁷Lu、¹⁵³Sm、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、⁶⁷Cu、²¹³Bi、²¹²Bi、²¹²Pb，以及⁶⁷Ga。適用於體內成像的示例性放射性藥物包括¹¹¹In脛嗉啉、¹³¹I碘化鈉、^{99m}Tc美洛芬寧、^{99m}Tc紅血球、¹²³I碘化鈉、^{99m}Tc依美他嗪、^{99m}Tc巨聚合白蛋白、^{99m}Tc亞甲基二磷酸、^{99m}Tc巰替肽、^{99m}Tc脛亞甲基二磷酸鹽、^{99m}Tc噴替酸、^{99m}Tc過鎔酸鹽、^{99m}Tc Sestamibi、^{99m}Tc硫膠體、^{99m}Tc替曲膦、鉈-201，以及氙-133。報導劑還可為染料，例如螢光基團，其可用於檢測由組織樣品中的MUC18⁺細胞調節的疾病。

【0142】為了進行體外診斷測定，可使抗MUC18抗體與懷疑含有MUC18⁺細胞的樣品接觸。該抗體及樣品可在合適的條件下作用一段合適的時間，以使抗體與該MUC18抗原結合。然後可透過常規方法例如ELISA或FACS檢測這種相

互作用。為了在體內進行診斷測定，可將適量的與標記物結合的抗MUC18抗體給予需要檢查的個體。可透過常規方法基於從標記釋放的訊號來檢測標記抗體的存在。

用於治療與診斷之套組

【0143】 本發明還提供用於抑制及/或消除MUC18⁺疾病細胞進而減輕與這種疾病細胞有關的疾病/病症的套組。這樣的套組可包括一或多個包含抗MUC18抗體的容器，包含這樣的抗體的ADC，或表現以MUC18為標靶的CAR多胜肽的免疫細胞，例如本文所述之任何的那些。

【0144】 於一些具體實施例中，該套組可包含用於根據如本文所述之任何方法的指示說明。所包括的指示說明可包含抗MUC18抗體、ADC，或免疫細胞的施用之描述，以治療、延緩發作或減輕如本文所述之目標疾病。該套組還可包含基於鑑定該個體是否具有該目標疾病來選擇適合於治療該個體之描述。在其他具體實施例中，該指示說明包含對一具有該目標疾病風險的個體施用抗體、ADC，或免疫細胞之描述。

【0145】 關於使用抗MUC18抗體、包含這樣的抗體的ADC，或表現以MUC18為標靶的CAR的免疫細胞的指示說明，通常包括關於預期治療的劑量、給藥方法，以及給藥途徑的資訊。該容器可為單位劑量、批量包裝(例如，多劑量包裝)或次單位劑量。在本發明的套組中提供的指示說明通常是在標籤或包裝插頁(例如，套組中包括的紙張)上的書面指示，但是機器可讀取之指示(例如，磁性或光學存儲盤上攜帶的指示)也是可以接受的。

【0146】 標籤或包裝插頁指示該組合物用於治療、延緩，及/或減輕與MUC18+細胞有關的疾病或病症，例如上皮癌，的發作。可以提供說明以實施如本文所述之任何方法。

【0147】 本發明之套組置於合適的包裝中。合適的包裝包括，但不限於，小瓶、瓶子、罐、軟性包裝(例如，密封的聚酯薄膜或塑膠袋)及其類似物。還包括用於與特定裝置組合使用的包裝，例如，吸入器、鼻部給藥裝置(例如，霧化器)或例如微型幫浦的輸注裝置。套組可具有無菌入口(例如，容器可為靜脈內溶液袋或具有可被皮下注射針刺穿之瓶塞的小瓶)。容器還可以具有無菌入口(例如，容器可為靜脈內溶液袋或具有可被皮下注射針刺穿之瓶塞的小瓶)。該組合物中的至少一種活性劑為抗MUC18抗體、包含這種抗體的ADC，或表現如本文所述之以MUC18為標靶的CAR的免疫細胞。

【0148】 套組可選擇性地提供附加組件，例如，緩衝液以及解釋資訊。通常，該套組包含在容器上或與容器相關聯的標籤或包裝插頁。於一些具體實施例中，本發明提供了包含上述套組的內容物之製品。

【0149】 本文還提供用於檢測一樣品中的MUC18+細胞的套組。這樣的套組可包含本文所述之任何抗MUC18抗體。於一些情況下，該抗MUC18抗體可與如本文所述之可檢測標記結合。如本文所用，「結合的」或「附接的」係指二個實體相關聯，較佳地具有足夠的親和力以實現兩個實體之間的關聯的治療/診斷益處。兩個實體之間的締合可為直接的，亦可透過一連接子，例如聚合物連接子。結合或附接可包括共價或非共價鍵以及其他形式的締合，例如包埋，例如，在另一實體上或在另一實體之內，或這二個實體其中之一或二者皆在一第三實體之上或之內，例如一微膠粒。

【0150】 替代地或另外地，該套組可包含能夠結合抗MUC18抗體的第二抗體。該套組可進一步包含使用抗MUC18抗體檢測MUC18⁺的說明書。

一般技術

【0151】 除非另有說明，本發明的實踐將使用在本領域技術範圍內的分子生物學(包括重組技術)、微生物學、細胞生物學、生物化學，以及免疫學的常規技術。在文獻中完全解釋了這樣的技術，例如Molecular Cloning：A Laboratory Manual，第二版(Sambrook等人，1989年)冷泉港出版社；寡核苷酸合成(M. J. Gait編輯，1984年)；Methods in Molecular Biology，Humana出版社；Cell Biology：A Laboratory Notebook (J. E. Cellis編輯，1989年) Academic出版社；動物細胞培養(R. I. Freshney編輯，1987年)；細胞與組織培養介紹(J. P. Mather與 P. E. Roberts，1998年) Plenum出版社；Cell and Tissue Culture：Laboratory Procedures (A. Doyle、J. B. Griffiths，以及D. G. Newell編輯，1993-8年) J. Wiley and Sons出版社；酵素學方法(Academic出版社公司)；Handbook of Experimental Immunology (D. M. Weir與C. C. Blackwell編輯)；哺乳動物細胞的基因轉移載體(J. M. Miller與M. P. Calos編輯，1987年)；Current Protocols in Molecular Biology (F. M. Ausubel，等人編輯，1987年)；PCR：聚合酶連鎖反應(Mullis等人編輯，1994年)；Current Protocols in Immunology (J. E. Coligan等人編輯，1991年)；Molecular Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons出版社，1999年)；免疫生物學(C. A. Janeway與P. Travers，1997年)；抗體(P. Finch，1997年)；抗體：一種實用的方法(D. Catty編輯，IRL出版社，1988-1989年)；單株抗體：一種實用的方法(P. Shepherd與C. Dean編輯，Oxford University 出版社，2000年)；使用抗體：實驗室手冊(E. Harlow與D. Lan (冷泉港實驗室出版社，1999年)；The Antibodies (M. Zanetti與J. D. Capra

編輯，Harwood Academic出版社，1995年)；*DNA Cloning: A practical Approach*，第I及II卷(D.N. Glover編輯，1985年)；*Nucleic Acid Hybridization* (B.D. Hames與S.J. Higgins編輯，1985年)；*Transcription and Translation* (B.D. Hames與S.J. Higgins編輯，1984年)；*Animal Cell Culture* (R.I. Freshney編輯，1986年)；*Immobilized Cells and Enzymes* (IRL出版社)(1986年)；以及B. Perbal, *A practical Guide To Molecular Cloning* (1984年)；F.M. Ausubel等人(編輯)。

【0152】 無需進一步的闡述，相信本領域技術人員可基於上述描述最大限度地利用本發明。因此，以下特定具體實施例將被解釋為僅僅是說明性的，而非以任何方式限制本發明其餘之部分。本文所引用之所有出版物係透過引用方式併入，為了本文參考之目的或主題。

實施例

實施例1：抗MUC18抗體之產生

試劑與一般方法

【0153】 雜交瘤細胞培養基(PFHM-II無蛋白雜交瘤培養基型號12040077)購自Thermo Fisher公司。

【0154】 使用標準方法以及Thermo Fisher公司(型號15596018)的TRIzol試劑分離RNAs。使用來自Takara公司的cDNA合成套組(PrimeScript II第一鏈cDNA合成套組；型號6210A)產生所得的cDNA分子。使用Takara公司的Premix Taq (型號RR901A)進行抗體V區擴增。標準PCR引子組(Ig-Primer Sets型號TB326)獲自Novagen公司。使用標準技術將基因選殖到pET28a載體(Novagen公司；型號69864)中，包括使用EcoRI、HindIII、Sall，以及T4連接酶(均來自NEB公司)。使

用QIAEX II凝膠萃取套組(QIAgen公司，型號20021)以純化部分而非全部寡核苷酸分子。

【0155】 A375、SK-Mel-2、GAK、HMOVII，以及SK-OV-3細胞培養物在37°C以及5% CO₂的環境中作為獨立的單層培養物體外培養。根據需要定期繼代這些腫瘤細胞。

篩選抗體庫以鑑定抗MUC18抗體

【0156】 如先前於美國專利公開號US 2015/0153356中所述，使用蛋白質組與胜肽抗原的混合物生成一巨大的單株抗體庫(總計 > 100,000)。該抗體庫被分成一系列高密度抗體陣列，然後再針對癌症腫瘤樣品與FDA正常組織陣列組進行篩選。

【0157】 發現從該抗體庫中分離的許多抗體，包括J253，差異地以A375細胞株(MUC18⁺黑色素瘤)為目標。透過以抗體進行免疫沉澱，然後進行質譜分析，將MUC18鑑定為目標抗原。隨後使用標準siRNA技術敲低MUC18，並過度表現MUC18，證實MUC18為抗體結合的目標抗原。

進行免疫作用以產生抗MUC18抗體

【0158】 使用免疫方法產生額外的抗MUC18抗體，包括CL070336、CL070335、CL070333、CL070319、CL070321、CL070320、CL070324、CL070341、CL070350、CL070349、CL070348，以及CL070370。簡言之，對B6/c小鼠以肌肉內注射重組MUC18蛋白(購自ACRO BioSystems公司；第24-559個胺基酸殘基)免疫六次。

抗體選殖株之生產

【0159】 將單顆雜交瘤選殖株培養於一T25燒瓶中，以10 mL雜交瘤細胞培養基(不含PFHM-II蛋白的雜交瘤培養基)一起培養。細胞於37°C下生長直至80%滿。然後除去該培養基，並以1x PBS洗滌細胞二次。將TRIzol試劑(1 mL體積)直接加入到該燒瓶中，並透過吸量管混合而將細胞裂解。然後從該T25燒瓶中回收細胞裂解物，並使用標準方法分離總RNA。隨後以一Nanodrop 2000 (Thermo Fisher公司)測量RNA濃度。然後根據Takara PrimeScript II第一鏈cDNA合成套組方法從分離的RNA中產生鏈cDNA。然後按照Novagen公司的使用者方法TB326進行所得cDNA的雜交瘤V區的擴增。如下表3所示之引子對用於擴增：

【0160】 表3. 用於擴增編碼抗MUC18抗體的核酸的引子

	引子	序列 (5' 至 3')	SEQ ID NO:
1	MuIgVH5'-A	GGGAATTCATGRASTTSKGGYTMARCTKGRTTT	91
2	MuIgVH5'-B	GGGAATTCATGRAATGSASCTGGGTYWYCTCTT	92
3	MuIgVH5'-C1	ACTAGTCGACATGGACTCCAGGCTCAATTTAGTTTTCT	93
4	MuIgVH5'-C2	ACTAGTCGACATGGCTGTCYTRBGCTGYTCYTCTG	94
5	MuIgVH5'-C3	ACTAGTCGACATGGVTTGGSTGTGGAMCTTGCYATTCCT	95
6	MuIgVH5'-D1	ACTAGTCGACATGAAATGCAGCTGGRTYATSTTCTT	96
7	MuIgVH5'-D2	ACTAGTCGACATGGRCAGRCTTACWTYYTCATTCCCT	97
8	MuIgVH5'-D3	ACTAGTCGACATGATGGTGTTAAGTCTTCTGTACCT	98
9	MuIgVH5'-E1	ACTAGTCGACATGGGATGGAGCTRTATCATSYTCTT	99
10	MuIgVH5'-E2	ACTAGTCGACATGAAGWTGTGGBTRAACCTGGRT	100
11	MuIgVH5'-E3	ACTAGTCGACATGGGRATGGASCKKIRTCTTTMTCT	101
12	MuIgVH5'-F1	ACTAGTCGACATGAACTTYGGGYTSAGMTTGRTTT	102
13	MuIgVH5'-F2	ACTAGTCGACATGTACTTGGGACTGAGCTGTGTAT	103
14	MuIgVH5'-F3	ACTAGTCGACATGAGAGTGCTGATTCTTTTGTG	104
15	MuIgVH5'-F4	ACTAGTCGACATGGATTTTGGGCTGATTTTTTTTATTG	105
16	MuIgMVH3'-1	CCCAAGCTTACGAGGGGGAAGACATTTGGGAA	106
17	MuIgGVH3'-2	CCCAAGCTTCCAGGGRCCARKGGATARACIGRTGG	107
18	MuIgkVL5'-A	GGGAATTCATGRAGWCACAKWCYCAGGTCTTT	108
19	MuIgkVL5'-B	GGGAATTCATGGAGACAGACACACTCCTGCTAT	109
20	MuIgkVL5'-C	ACTAGTCGACATGGAGWCAGACACACTSCTGYTATGGGT	110
21	MuIgkVL5'-D1	ACTAGTCGACATGAGGRCCCCTGCTCAGWTTYTTGGIWTCTT	111
22	MuIgkVL5'-D2	ACTAGTCGACATGGGCWTCAGATGRAGTCACAKWYYCWGG	112
23	MuIgkVL5'-E1	ACTAGTCGACATGAGTGTGCYCACTCAGGTCCTGSGTT	113
24	MuIgkVL5'-E2	ACTAGTCGACATGTGGGGAYCGKTTTYAMMCTTTTCAATTG	114
25	MuIgkVL5'-E3	ACTAGTCGACATGGAAGCCCCAGCTCAGCTTCTCTTCC	115

26	MuIgkVL5'-F1	ACTAGTCGACATGAGIMMKTCIMTTCAITTCYTGGG	116
27	MuIgkVL5'-F2	ACTAGTCGACATGAKGTHCYCIGCTCAGYTYCTIRG	117
28	MuIgkVL5'-F3	ACTAGTCGACATGGTRTCCWCASCTCAGTTCCTTG	118
29	MuIgkVL5'-F4	ACTAGTCGACATGTATATATGTTTGTGTCTATTTCT	119
30	MuIgkVL5'-G1	ACTAGTCGACATGAAGTTGCCTGTTAGGCTGTTGGTGCT	120
31	MuIgkVL5'-G2	ACTAGTCGACATGGATTTWCARGTGCAGATTWTCAGCTT	121
32	MuIgkVL5'-G3	ACTAGTCGACATGGTYCTYATVTCCTTGCTGTTCTGG	122
33	MuIgkVL5'-G4	ACTAGTCGACATGGTYCTYATVTTRCTGCTGCTATGG	123
34	MuIgkVL3'-1	CCCAAGCTTACTGGATGGTGGGAAGATGGA	124
35	MuIglVL5'-A	GGGAATTCATGGCCTGGAYTYCWCTYWTMYTCT	125
36	MuIglVL3'-1	CCCAAGCTTAGCTCYTCWGWGGAIGGYGGRAA	126

【0161】 以1%瓊脂凝膠檢查PCR產物。使用QIAgen凝膠萃取套組回收陽性PCR產物，然後使用對應於引子序列的限制酶(來自NEB公司)將其選殖到pET28a載體中。將插入有PCR產物的pET28a載體轉型到DH5α細菌細胞中，並在氨苄青黴素陽性瓊脂盤上進行培養。使用MuIgGVH3'-2、MuIgkVL3'-1，或MuIglVL3'-1引子將每個細菌選殖株以Sanger定序。比較獲得的序列的一致性，以分別確認目標V_H及V_L序列。然後在IGMT資料庫(imgt.org/)上分析V_H及V_L序列，以提供V_H及V_L的V區域、框架區，以及CDR元素。

實施例2：抗MUC18抗體之體外評估

與MUC18的結合活性

【0162】 將以 MUC18 為目標的 siRNA 添加至 MUC18⁺ A375 細胞 (MUC18.si)的兩個樣品之一中。使用胰蛋白酶-EDTA部分消化收集兩個細胞樣品，然後以1000 rpm離心5分鐘。將細胞重新懸浮於冰冷的PBS中，並加入抗MUC18抗體J253。混合細胞溶液，在黑暗中於4°C下培養，並以PBS洗滌，然後添加二級抗體結合物(用於檢測)。作用後，將細胞以PBS洗滌，以固定劑固定，然後進行流式細胞儀(FACS)分析。如圖1所示，在沒有siRNA (對照組)的情況下，

抗MUC18抗體(J253)顯示出對MUC18⁺ A375細胞樣品的飽和結合。在以MUC18為目標的siRNA存在下，生長的細胞顯示出與抗MUC18抗體的結合減少。這些數據表示，本文所述之抗MUC18抗體以MUC18為目標，包括細胞表面MUC18。

【0163】 使用與上述相同的基於FACS的測定法，還證明了抗MUC18抗體(J253)顯示出與表現人類MUC18或靈長類MUC18的A375細胞的飽和結合(圖2)。

【0164】 為了進一步證明抗MUC18抗體特異性結合MUC18，使用ELISA滴定試驗在抗原結合測定中測試了抗體。將抗體與不同濃度的重組MUC18蛋白(rProtein)一起培養。如下表4所示，所有測試的抗體以0.19-100 nM的結合親和力結合。

【0165】 表4. 抗MUC18抗體之結合親和力

抗體名稱	結合親和力(nM)
CL070336	0.39
CL070335	0.39
CL070333	12.5
CL070319	> 1000
CL070321	> 1000
CL070320	> 1000
CL070324	50
CL070341	50
CL070350	0.19
CL070349	1.56
CL070348	> 1000
CL070370	3.12
J253	0.39

實施例3：抗MUC18抗體-藥物結合物之製備與體外評估

【0166】 產生包含J253抗體與單甲基奧利他汀E (J253-vc-MMAE)的抗MUC18抗體-藥物結合物(ADC)。首先使用一醯胺偶聯反應將一連接子分子(馬來醯亞胺基己醯基-L-纈胺酸-L-瓜胺酸-對胺基苄醇對硝基苯基碳酸酯)偶聯至單甲

基奧利他汀E (MMAE)。在純化該第一化合物之後，使用基於硫醇的反應將其與J253抗體偶聯。

【0167】 將J253-vc-MMAE添加到A375細胞樣品中，以確定抗MUC18 ADC被內化到MUC18⁺細胞中的能力。在將ADC添加到A375樣品後的0、0.5、1、2、3，以及4小時評估中值螢光強度(Median fluorescence intensity, MFI)。如圖3A所示，J253-vc-MMAE以2.5小時的半衰期($T_{1/2}$)內化到該A375細胞中。

【0168】 在確定J253-vc-MMAE可被MUC18⁺細胞內化之後，測試J253-vc-MMAE在MUC18⁺黑色素瘤細胞株(HMV-II、SK-MEL-2，以及GAK細胞)中誘導細胞毒性的有效性。以具有低MUC18表現量的NCI-N87細胞作為陰性對照細胞株。每個黑色素瘤細胞株HMV-II、SK-MEL-2，以及GAK均給予不同濃度的J253-vc-MMAE或對照ADC (IgG-vc-MMAE)。給藥後，使用標準方法評估細胞活性。在所有三種MUC18⁺細胞株中，J253-vc-MMAE導致細胞活性降低至總活性的約20%， IC_{50} 值為103.3 pM (HMV-II)、115.1 pM (SK-MEL-2)，以及297.3 pM (GAK)，如圖3B-3D所示。在對照細胞株(NCI-N87)中，J253-vc-MMAE在高濃度ADC下引起細胞活性最低限度的降低；然而 IC_{50} 值 > 100,000 pM。IgG對照抗體不會導致細胞活性的重大損失。

實施例4：抗MUC18抗體-藥物結合物之體內評估

【0169】 對小鼠皮下注射A375黑色素瘤細胞。在注射A375細胞後第8天(平均腫瘤大小約100 mm³)以及第22天，對小鼠靜脈內注射以下之一：PBS；IgG-vc-MMAE；J253-vc-MMAE (3 mg/kg)；或J253-vc-MMAE (6 mg/kg)。從治療開始日起每週兩次測量腫瘤體積。

【0170】 值得注意的是，相對於以PBS治療的小鼠，以3 mg/kg或6 mg/kg的J253-vc-MMAE治療的小鼠的腫瘤生長顯著減少(圖4)。此外，相對於以PBS治療的小鼠，以IgG-vc-MMAE治療的小鼠具有最少的腫瘤減少。這些數據表示，J253-vc-MMAE可有效減少A375異種移植小鼠模型中的腫瘤體積。

實施例5：抗MUC18 CAR⁺ T細胞之製備與體外評估

【0171】 將人源化CL070324、人源化J253-03-1，以及人源化J253-03-7抗MUC18抗體(V_H與V_L)插入具有一CD8鉸鏈區、一CD8跨膜區、一共刺激物4-1BB的胞內結構域，以及一CD3 ζ 的胞內結構域框架的一嵌合抗原受體載體中。該載體進一步包含一EF1 α 啟動子。使用慢病毒包裝將編碼抗MUC18 CAR⁺的核酸轉染到293T細胞中。然後活化人類CD3⁺ T細胞並以慢病毒轉導以產生抗MUC18 CAR⁺ T細胞。如上所述產生抗MUC18 CAR⁺ T細胞後，使用FACS確定每種CAR構築體的轉導效率(圖5)。以抗MUC18 CAR轉導的T細胞群體包含 > 50%的CAR⁺細胞。

【0172】 測試抗MUC18 CAR⁺ T細胞在MUC18⁺黑色素瘤細胞株(A375、SK-MEL-2、GAK，以及HMV-II細胞)中誘導抗原依賴性細胞毒性以及IFN γ 分泌的能力。具有低MUC18表現量的SKOV-3細胞被作為陰性對照細胞株。每個黑色素瘤細胞株均按不同比例的T細胞(效應細胞)與目標細胞比例給予抗MUC18 CAR⁺ T細胞或對照(CD3 T細胞)。

【0173】 在將T細胞與目標細胞一起培養之後，使用標準方法評估目標細胞的特異性裂解/細胞毒性(圖6A-6E)。在所有MUC18⁺細胞株中，抗MUC18 CAR⁺ T細胞的添加以1:1及以上的T細胞:目標細胞的比例誘導抗原依賴性細胞毒性。對照實驗(與無CAR的CD3 T細胞一起培養)未導致特異性細胞毒性的明顯誘導。

【0174】 在相同的劑量實驗期間，使用標準方法評估抗MUC18 CAR⁺ T細胞誘導目標細胞分泌干擾素 γ (IFN γ)的能力(圖7A-7E)。在所有MUC18⁺細胞株中，抗MUC18 CAR⁺ T細胞的添加以1：1或以上的T細胞：目標細胞的比例誘導高量的IFN γ 。對照實驗(與無CAR的CD3 T細胞培養)未導致IFN γ 的顯著分泌。

其他具體實施例

【0175】 本說明書中公開的所有特徵可以任何組合形式來進行組合。本說明書中公開的每個特徵可以由作用於相同、等同或相似目的之替代特徵所代替。因此，除非另有明確說明，否則所公開的每個特徵僅僅為等效或類似特徵的通用系列之示例。

【0176】 從上面的描述中，本領域技術人員可以輕易地確定本發明的基本特徵，並且在不脫離本發明的精神及範圍之情況下，可以對本發明進行各種改變與修改，以使其適應各種用途及條件。因此，其它具體實施例也在申請專利範圍內。

等同

【0177】 雖然本文已描述並闡明了幾個發明具體實施例，但是本領域普通技術人員將容易想出用於執行功能及/或獲得結果的各種其他手段及/或結構及/或所述之一或多個優點，且這些變化及/或修改中的每一個被認為包含在本文所述之發明具體實施例的範圍內。更一般地，本領域技術人員將容易理解到，如本文所述之所有參數、尺寸、材料及配置目的為示例性的，且實際參數、尺寸、材料及/或配置將取決於具體應用或應用使用本發明之教示。本領域技術人員將認識到或能夠使用不超過常規實驗來確定如本文所述之具體創造性實施例的許多等同物。因此，應當理解的是，前述具體實施例僅以示例之方式呈現，且在

所附之申請專利範圍及其等同物的範圍內，發明具體實施例可以不同於具體描述及請求保護之方式實施。本發明的發明具體實施例涉及如本文所述之每個單獨特徵、系統、製品、材料、套組及/或方法。此外，如果這些特徵、系統、物品、材料、套組及/或方法不相互矛盾，則二個或更多個這樣的特徵、系統、製品、材料、套組及/或方法的任何組合都包括在本發明之發明範圍內。

【0178】 本文定義及使用之所有定義應理解為以字典定義、透過引用併入之文獻中的定義，及/或定義術語之普通含義為主。

【0179】 本文中公開的所有參考文獻、專利及專利申請均透過引用方式併入本文，並涉及每個被引用的主題，在某些情況下其可包含整個文件。

【0180】 在本說明書及申請專利範圍中使用之定冠詞「一」以及「一個」，除非明確指出相反意思，否則應理解為「至少一個」。

【0181】 在本說明書及申請專利範圍中使用之片語「及/或」應被理解為係指所結合的元件中的「一個或二個」，亦即，在某些情況下該些元件結合存在，而在另一情況下則分開存在。以「及/或」列出的多個元件應該以相同之方式來解釋，亦即，「一個或多個」元件如此地連接。除了以「及/或」子句特別標識之元件外，其他元件可選擇性地存在，不論與這些特別標識之元件相關或不相關。因此，作為非限制性的示例，當結合諸如「包含」的開放式語言使用時，對「A及/或B」的引用可以於一具體實施例中僅指A (選擇性地包括除了B之外的元件)；在另一具體實施例中，則僅指B (選擇性地包括除了A之外的元件)；在另一具體實施例中，則指A與B (選擇性地包括其它元件)；等等。

【0182】 如本說明書及申請專利範圍中所使用的，「或」應理解為具有與上述定義之「及/或」相同的含義。例如，當於一列表中分離項目時，「或」或

「及/或」應被解釋為包括的，亦即，包括數量或元件列表中的至少一個，但也包括多於一個，以及選擇性地，額外未列出之項目。只有明確指示出相反的意思，例如「只有一個」或「確切為一個」，或，當用於申請專利範圍中，「由...組成」時，將指的是僅列出之一或多個元件。一般而言，當前面放有排他性術語，例如「任一」、「之一」、「只有之一」或「確切為一個」時，本文所用之「或」乙詞應僅被解釋為表示排他性的替代品(亦即，「一個或另一個，但不是二者」)。當「主要由...組成」用於申請專利範圍中時，應具有其在專利法領域所使用之普通含義。

【0183】 如本說明書及申請專利範圍中所使用的，片語「至少一個」對於一個或多個元件的列表，應當被理解為係指從元件列表中的任何一個或多個元件選擇出的至少一個元件，但不一定包括具體列在元件列表中的各個及每個元件中的至少一個，且並不排除元件列表中的元件之任何組合。該定義還允許選擇性地存在除了在片語「至少一個」所指的元件列表中具體標識的元件之外的元件，無論是與這些特定標識的元件相關或不相關的元件。因此，作為非限制性的實施例，「**A**和**B**中的至少一個」(或等效地，「**A**或**B**中的至少一個」或等同地「**A**及/或**B**中的至少一個」)，於一具體實施例中，可以指至少一個，選擇性地包括多於一個，**A**，而沒有**B**的存在(且可視需要地包括除了**B**之外的元件)；在另一個具體實施例中，指至少一個，選擇性地包括多於一個，**B**，而沒有**A**的存在(且選擇性地包括除了**A**之外的元件)；在另一具體實施例中，指至少一個，選擇性地包括多於一個，**A**，以及至少一個，選擇性地包括多於一個，**B** (且選擇性地包括其它元件)；等等。

【0184】 還應當理解的是，除非明確地指出相反者，否則在本文所要求的任何包括多於一個步驟或作用的方法中，方法的步驟或動作之順序不一定限於在所述之該方法的步驟或動作之順序。

【符號說明】 無

【生物材料寄存】 無

序列表

<110> 沐特圖公司
<120> MUC18特異性抗體
<130>
<140> 108146802
<141> 2019-12-19
<150> PCT/CN2018/122572
<151> 2018-12-21
<160> 126
<170> PatentIn version 3.5
<210> 1
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成胜肽
<400> 1

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 Asp Tyr
20 25 30
Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Gln Ser Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Asp Ile Asn Pro Asn Asn Gly Ala Thr Leu Tyr Asn Gln Asn Phe
50 55 60
Arg Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala 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

Thr Arg Ser Gly Tyr Asp Asp Tyr Tyr Ala Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 2
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 2

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

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

Gly Trp Ile Phe Pro Gly Asp Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

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

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

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

Val Ser Ser
115

<210> 3
<211> 115

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 3

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu 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

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

Gly Trp Ile Phe Pro Gly Asp Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

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

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

Val Ser Ser
115

<210> 4
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 4

Asp Thr Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
35 40 45

Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
65 70 75 80

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Trp Ser Asn Tyr Pro Ser Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 5
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 5

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Tyr Lys
20 25 30

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

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Met Ser Thr Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu
85 90 95

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

<210> 6
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 6

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Tyr Lys
20 25 30

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

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Met Ser Thr Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu
85 90 95

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

<210> 7
<211> 646

<212> PRT
<213> 人類

<400> 7

Met Gly Leu Pro Arg Leu Val Cys Ala Phe Leu Leu Ala Ala Cys Cys
1 5 10 15
Cys Cys Pro Arg Val Ala Gly Val Pro Gly Glu Ala Glu Gln Pro Ala
20 25 30
Pro Glu Leu Val Glu Val Glu Val Gly Ser Thr Ala Leu Leu Lys Cys
35 40 45
Gly Leu Ser Gln Ser Gln Gly Asn Leu Ser His Val Asp Trp Phe Ser
50 55 60
Val His Lys Glu Lys Arg Thr Leu Ile Phe Arg Val Arg Gln Gly Gln
65 70 75 80
Gly Gln Ser Glu Pro Gly Glu Tyr Glu Gln Arg Leu Ser Leu Gln Asp
85 90 95
Arg Gly Ala Thr Leu Ala Leu Thr Gln Val Thr Pro Gln Asp Glu Arg
100 105 110
Ile Phe Leu Cys Gln Gly Lys Arg Pro Arg Ser Gln Glu Tyr Arg Ile
115 120 125
Gln Leu Arg Val Tyr Lys Ala Pro Glu Glu Pro Asn Ile Gln Val Asn
130 135 140
Pro Leu Gly Ile Pro Val Asn Ser Lys Glu Pro Glu Glu Val Ala Thr
145 150 155 160
Cys Val Gly Arg Asn Gly Tyr Pro Ile Pro Gln Val Ile Trp Tyr Lys
165 170 175
Asn Gly Arg Pro Leu Lys Glu Glu Lys Asn Arg Val His Ile Gln Ser
180 185 190

Ser Gln Thr Val Glu Ser Ser Gly Leu Tyr Thr Leu Gln Ser Ile Leu
195 200 205

Lys Ala Gln Leu Val Lys Glu Asp Lys Asp Ala Gln Phe Tyr Cys Glu
210 215 220

Leu Asn Tyr Arg Leu Pro Ser Gly Asn His Met Lys Glu Ser Arg Glu
225 230 235 240

Val Thr Val Pro Val Phe Tyr Pro Thr Glu Lys Val Trp Leu Glu Val
245 250 255

Glu Pro Val Gly Met Leu Lys Glu Gly Asp Arg Val Glu Ile Arg Cys
260 265 270

Leu Ala Asp Gly Asn Pro Pro Pro His Phe Ser Ile Ser Lys Gln Asn
275 280 285

Pro Ser Thr Arg Glu Ala Glu Glu Glu Thr Thr Asn Asp Asn Gly Val
290 295 300

Leu Val Leu Glu Pro Ala Arg Lys Glu His Ser Gly Arg Tyr Glu Cys
305 310 315 320

Gln Gly Leu Asp Leu Asp Thr Met Ile Ser Leu Leu Ser Glu Pro Gln
325 330 335

Glu Leu Leu Val Asn Tyr Val Ser Asp Val Arg Val Ser Pro Ala Ala
340 345 350

Pro Glu Arg Gln Glu Gly Ser Ser Leu Thr Leu Thr Cys Glu Ala Glu
355 360 365

Ser Ser Gln Asp Leu Glu Phe Gln Trp Leu Arg Glu Glu Thr Gly Gln
370 375 380

Val Leu Glu Arg Gly Pro Val Leu Gln Leu His Asp Leu Lys Arg Glu
385 390 395 400

Ala Gly Gly Gly Tyr Arg Cys Val Ala Ser Val Pro Ser Ile Pro Gly
405 410 415

Leu Asn Arg Thr Gln Leu Val Asn Val Ala Ile Phe Gly Pro Pro Trp
420 425 430

Met Ala Phe Lys Glu Arg Lys Val Trp Val Lys Glu Asn Met Val Leu
435 440 445

Asn Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly His Pro Arg Pro Thr Ile Ser Trp
450 455 460

Asn Val Asn Gly Thr Ala Ser Glu Gln Asp Gln Asp Pro Gln Arg Val
465 470 475 480

Leu Ser Thr Leu Asn Val Leu Val Thr Pro Glu Leu Leu Glu Thr Gly
485 490 495

Val Glu Cys Thr Ala Ser Asn Asp Leu Gly Lys Asn Thr Ser Ile Leu
500 505 510

Phe Leu Glu Leu Val Asn Leu Thr Thr Leu Thr Pro Asp Ser Asn Thr
515 520 525

Thr Thr Gly Leu Ser Thr Ser Thr Ala Ser Pro His Thr Arg Ala Asn
530 535 540

Ser Thr Ser Thr Glu Arg Lys Leu Pro Glu Pro Glu Ser Arg Gly Val
545 550 555 560

Val Ile Val Ala Val Ile Val Cys Ile Leu Val Leu Ala Val Leu Gly
565 570 575

Ala Val Leu Tyr Phe Leu Tyr Lys Lys Gly Lys Leu Pro Cys Arg Arg
580 585 590

Ser Gly Lys Gln Glu Ile Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Ser Glu Leu
595 600 605

Val Val Glu Val Lys Ser Asp Lys Leu Pro Glu Glu Met Gly Leu Leu
610 615 620

Gln Gly Ser Ser Gly Asp Lys Arg Ala Pro Gly Asp Gln Gly Glu Lys
625 630 635 640

Tyr Ile Asp Leu Arg His
645

<210> 8
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 8

Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly Tyr Ser
1 5

<210> 9
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 9

Gly Phe Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr
1 5

<210> 10
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 10

Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr Ala

1 5

<210> 11
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 11

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Asn
1 5

<210> 12
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 12

Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Gly
1 5

<210> 13
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 13

Gly Phe Thr Phe Asn Asn Tyr Gly
1 5

<210> 14
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 14
Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly Phe Tyr
1 5

<210> 15
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 15
Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp Tyr Ala
1 5

<210> 16
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 16
Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Ser
1 5

<210> 17
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 17
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Asp
1 5

<210> 18
<211> 7
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成胜肽

<400> 18

Met His Tyr Ser Ala Thr Pro
1 5

<210> 19

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成胜肽

<400> 19

Ile His Tyr Ser Thr Thr Thr
1 5

<210> 20

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成胜肽

<400> 20

Ile Tyr Pro Gly Asn Val Asn Thr
1 5

<210> 21

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成胜肽

<400> 21

Ile Thr Ala Tyr Ser Gly Asp Ala
1 5

<210> 22
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 22

Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr
1 5

<210> 23
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 23

Ile Asn Pro Asn Asn Gly Ala Thr
1 5

<210> 24
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 24

Ile Asn Ser Arg Ala Ser Tyr Thr
1 5

<210> 25
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 25

Ile Asn Arg Gly Gly Ser Tyr Thr
1 5

<210> 26
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 26

Ile Asn Phe Gly Gly Thr Asn
1 5

<210> 27
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 27

Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr
1 5

<210> 28
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 28

Ile Asn Thr Glu Thr Gly Glu Pro
1 5

<210> 29
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 29

Ile Phe Pro Gly Asp Gly Ser Thr
1 5

<210> 30
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 30

Ser Arg Ser Leu Asn Trp Asp Val Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 31
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 31

Ala Arg Ser Gly Tyr Phe Ala Ser Ser Tyr Glu Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 32
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 32

Ala Arg Gly Leu Gly Arg Pro Asn Tyr Gly Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 33

<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 33

Ala Arg Ser Gly Tyr Asp Asp Tyr Tyr Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 34
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 34

Ala Arg Ser Gly Tyr Asp Asn Tyr Tyr Ala Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 35
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 35

Thr Arg Ser Gly Tyr Asp Asp Tyr Tyr Ala Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 36
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 36

Ala Arg His Arg Arg Asp Trp Asp Ser Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 37
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 37

Ala Arg Gly Gly Asn Asp Gly Gly Phe Thr Tyr
1 5 10

<210> 38
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 38

Ala Arg Arg Ile Arg Arg Arg Thr Gly Asp Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10 15

<210> 39
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 39

Val Ser Tyr Asp Tyr Asp Ala Val Ser Tyr
1 5 10

<210> 40
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 40

Ala Arg Tyr His Phe Phe Asp Asn
1 5

<210> 41
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 41

Lys Ser Val Arg Thr Ser Gly Tyr Asn Tyr
1 5 10

<210> 42
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 42

Lys Ser Val Arg Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr
1 5 10

<210> 43
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 43

Glu Asn Ile Tyr Ser Tyr
1 5

<210> 44
<211> 12
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成胜肽

<400> 44

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

<210> 45

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成胜肽

<400> 45

Ser Ser Val Gly Tyr
1 5

<210> 46

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成胜肽

<400> 46

Ser Thr Val Gly Tyr
1 5

<210> 47

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成胜肽

<400> 47

Gln Ser Val Leu Tyr Asn Ser Asn Gln Lys Asn Tyr
1 5 10

<210> 48
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 48

Arg Ser Val Leu Tyr Asn Ser Asn Gln Lys Asn Tyr
1 5 10

<210> 49
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 49

Ser Ser Val Ser Ser Thr Tyr
1 5

<210> 50
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 50

Gln Asn Leu Leu Asn Ser Val Asn Gln Lys Asn Phe
1 5 10

<210> 51
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 51

Gln Tyr Val Gly Ala Ala
1 5

<210> 52
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 52

Lys Ser Leu Leu Tyr Lys Asp Gly Lys Thr Tyr
1 5 10

<210> 53
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 53

Gln His Ser Arg Glu Phe Pro Phe Thr
1 5

<210> 54
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 54

Gln His Thr Arg Glu Phe Pro Phe Thr
1 5

<210> 55
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 55

Gln His His Tyr Gly Thr Pro Leu Thr
1 5

<210> 56
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 56

Gln Gln His Tyr Gly Thr Pro Phe Thr
1 5

<210> 57
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 57

His Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Ser Thr
1 5

<210> 58
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 58

His Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Cys Thr
1 5

<210> 59

<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 59

His Gln Trp Ser Asn Tyr Pro Ser Thr
1 5

<210> 60
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 60

His Gln Tyr Leu Ser Ser Trp Thr
1 5

<210> 61
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 61

His Gln Trp Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 62
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 62

Gln Asn Asp Tyr Ile Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 63
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 63

Gln Gln Tyr Gly Asn Tyr Arg Thr
1 5

<210> 64
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 64

Gln Gln Leu Val Glu Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 65
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 65

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

Ser Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly
20 25 30

Tyr Ser Trp His Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu Glu Trp
35 40 45

Leu Gly Tyr Met His Tyr Ser Ala Thr Pro Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe
65 70 75 80

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

Ser Arg Ser Leu Asn Trp Asp Val Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Leu Ile Val Ser Ser
115

<210> 66
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 66

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

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Arg Thr Ser
20 25 30

Gly Tyr Asn Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

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

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

Pro Val Glu Glu Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg

85

90

95

Glu Phe Pro Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Glu Ile Lys

100105110

<210> 67

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成胜肽

<400> 67

Asp Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Asp Leu Val Lys Pro Ser Gln

151015

Ser Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly

202530

Tyr Ser Trp His Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu Glu Trp

354045

Met Gly Tyr Ile His Tyr Ser Thr Thr Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu

505560

Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe

65707580

Leu Gln Leu Ser Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys

859095

Ser Arg Ser Leu Asn Trp Asp Val Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100105110

Thr Leu Ile Val Ser Ser

115

<210> 68

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成胜肽

<400> 68

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

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Arg Thr Ser
20 25 30

Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

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

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

Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Thr Arg
85 90 95

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

<210> 69

<211> 121

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成胜肽

<400> 69

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

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

Tyr Leu His Trp Leu Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asn Val Asn Thr Glu Phe Asn Glu Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Ser Gly Tyr Phe Ala Ser Ser Tyr Glu Phe Ala Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115 120

<210> 70
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 70

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

Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val
35 40 45

Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Val
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr His Phe Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Pro

65					70						75					80
Glu	Asp	Phe	Gly	Ser	Tyr	Tyr	Cys	Gln	His	His	Tyr	Gly	Thr	Pro	Leu	
				85					90					95		
Thr	Phe	Gly	Ala	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Leu	Lys						
			100					105								
<210>	71															
<211>	120															
<212>	PRT															
<213>	人工序列															
<220>																
<223>	合成胜肽															
<400>	71															
Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Leu	Leu	Arg	Pro	Gly	Val	
1				5					10					15		
Ser	Val	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Gly	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Glu	Tyr	
			20					25					30			
Ala	Met	His	Trp	Val	Lys	Gln	Ser	His	Ala	Lys	Ser	Leu	Glu	Trp	Ile	
		35					40					45				
Gly	Val	Ile	Thr	Ala	Tyr	Ser	Gly	Asp	Ala	Phe	Tyr	Asn	Leu	Lys	Phe	
	50					55					60					
Lys	Gly	Lys	Ala	Thr	Val	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Ser	Ser	Thr	Ala	Tyr	
65					70					75					80	
Met	Glu	Leu	Ala	Arg	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Ile	Tyr	Tyr	Cys	
				85					90					95		
Ala	Arg	Gly	Leu	Gly	Arg	Pro	Asn	Tyr	Gly	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	
			100					105					110			
Gly	Thr	Ser	Val	Thr	Val	Ser	Ser									
		115					120									

<210> 72
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 72

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

Gln Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Arg Tyr Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Leu Tyr Phe Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

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

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln
85 90 95

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

Lys

<210> 73
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 73

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

<210> 74
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 74

Gln Val Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Phe Leu Gly
1 5 10 15
Glu Lys Ile Thr Leu Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Gly Tyr Leu
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

35					40					45						
Ser	Thr	Ser	Asn	Val	Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	
50					55					60						
Gly	Ser	Gly	Thr	Phe	Tyr	Ser	Leu	Lys	Ile	Ser	Ser	Val	Glu	Ala	Glu	
65					70					75					80	
Asp	Ala	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	His	Gln	Trp	Ser	Ser	Tyr	Pro	Ser	Thr	
85					90					95						
Phe	Gly	Ala	Gly	Thr	Arg	Leu	Glu	Leu	Lys							
100					105											
<210> 75																
<211> 120																
<212> PRT																
<213> 人工序列																
<220>																
<223> 合成胜肽																
<400> 75																
Glu	Val	Leu	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Pro	Glu	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Thr	
1				5				10				15				
Ser	Val	Lys	Ile	Pro	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Asp	Tyr	
20				25				30								
Asn	Met	Asp	Trp	Val	Lys	Gln	Ser	His	Gly	Lys	Ser	Leu	Glu	Trp	Ile	
35				40				45								
Gly	Asp	Ile	Asn	Pro	Asn	Asn	Gly	Gly	Thr	Leu	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe	
50				55				60								
Lys	Gly	Lys	Ala	Thr	Leu	Ser	Val	Asp	Lys	Ser	Ser	Ser	Thr	Ala	Tyr	
65				70				75				80				
Met	Glu	Leu	Arg	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Ala	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
85				90				95								

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

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 76
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 76

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

Glu Glu Ile Thr Leu Thr Cys Ser Ala Ser Ser Thr Val Gly Tyr Met
20 25 30

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

Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

Asp Ala Ala Asp Tyr Tyr Cys His Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Cys Thr
85 90 95

Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 77
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 77

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

<210> 78
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 78

Gln Thr Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Glu Ile Thr Leu Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met

30

Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Gly Leu Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg His Arg Arg Asp Trp Asp Ser Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 80
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 80

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

Asp Lys Val Thr Met Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Asn
20 25 30

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

Ser Pro Thr Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Ser Glu Ser Gly Val
50 55 60

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

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln
85 90 95

Tyr Leu Ser Ser Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 81

<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 81

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

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

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Asp Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Thr Ile Asn Arg Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg His Arg Arg Asp Trp Asp Ser Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 82
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 82

Asn Ile Met Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly

I855014

1					5					10					15				
Asp	Lys	Val	Ala	Met	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Arg	Ser	Val	Leu	Tyr	Asn				
			20							25				30					
Ser	Asn	Gln	Lys	Asn	Tyr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Leu	Lys	Pro	Gly	Gln				
			35							40				45					
Ser	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Trp	Ala	Ser	Thr	Arg	Glu	Ser	Gly	Val				
			50										60						
Pro	Asp	Arg	Phe	Thr	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr				
65							70							75					
Ile	Ser	Ser	Val	Gln	Ala	Glu	Asp	Leu	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	His	Gln				
						85										95			
Tyr	Leu	Ser	Ser	Trp	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys				
															110				

<210>	83
<211>	118
<212>	PRT
<213>	人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 83

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

Ser Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly
20 25 30

Phe Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Leu Pro Gly Asn Lys Leu Glu Trp
35 40 45

Leu Gly Tyr Ile Asn Phe Gly Gly Thr Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ile Arg Gly Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe
65 70 75 80

Leu Lys Leu Asn Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

Leu Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 84
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 84

Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Val Ala Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Gln Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Thr
20 25 30

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

Leu His Arg Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu
65 70 75 80

Ala Glu Asp Asp Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Trp Ser Gly Tyr Pro
85 90 95

Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100

105

<210> 85
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 85

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

Ser Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

Tyr Ala Trp His Trp Ile Arg Gln Cys Pro Gly Asn Lys Leu Glu Trp
35 40 45

Met Ala Tyr Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe
65 70 75 80

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

Ala Arg Arg Ile Arg Arg Arg Thr Gly Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp
100 105 110

Gly Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 86
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 86

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

Lys

<210> 87
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 87

Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Ser Met His Trp Val Lys Gln Ala Pro Arg Lys Gly Leu Lys Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Glu Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Asn Leu Arg Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
85 90 95

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

Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 88
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 88

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Asn Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Tyr Val Gly Ala Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Asn Val Gln Ser

65

70

75

80

Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Gly Asn Tyr Arg Thr

859095

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100105

<210> 89

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成胜肽

<400> 89

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala

151015

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

202530

Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile

354045

Gly Trp Ile Phe Pro Gly Asp Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Glu Lys Phe

505560

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65707580

Met Gln Leu Ser Arg Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys

859095

Ala Arg Tyr His Phe Phe Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr

100105110

Val Ser Ser

115

<210> 90
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 90

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

Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Tyr Lys
20 25 30

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Ser Trp Phe Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Met Ser Thr Arg Ala Ser Gly Val Ser
50 55 60

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

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

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

<210> 91
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 91

gggaattcat grasttskgg ytmarctkgr ttt

<210> 92

<211>	34	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成多核苷酸	
<400>	92	
	gggaattcat graatgsasc tgggtywtgc tctt	34
<210>	93	
<211>	39	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成多核苷酸	
<400>	93	
	actagtcgac atggactcca ggctcaattt agttttcct	39
<210>	94	
<211>	36	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成多核苷酸	
<400>	94	
	actagtcgac atggctgtcy trgbgctgyt cytctg	36
<210>	95	
<211>	39	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成多核苷酸	
<400>	95	
	actagtcgac atggvttggs tgtggamctt gcyattcct	39
<210>	96	
<211>	36	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	合成多核苷酸	
<400>	96	
	actagtcgac atgaaatgca gctggrrtyat sttcctt	36
<210>	97	
<211>	36	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成多核苷酸	
<400>	97	
	actagtcgac atggrcagrc ttacwtyytc attcct	36
<210>	98	
<211>	36	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成多核苷酸	
<400>	98	
	actagtcgac atgatgggtgt taagtcttct gtacct	36
<210>	99	
<211>	36	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成多核苷酸	
<400>	99	
	actagtcgac atgggatgga gctrtatcat sytcctt	36
<210>	100	
<211>	33	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成多核苷酸	
<400>	100	

actagtcgac atgaagwtgt ggbtraactg grt 33

<210> 101
<211> 35
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<220>
<221> 其它特徵
<222> (25)..(25)
<223> n為肌苷

<400> 101
actagtcgac atggratgga sckknrtctt tmtct 35

<210> 102
<211> 35
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 102
actagtcgac atgaacttyg ggytsagmtt grttt 35

<210> 103
<211> 35
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 103
actagtcgac atgtacttgg gactgagctg tgtat 35

<210> 104
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400>	104	
actagtcgac atgagagtgc tgattctttt gtg		33
<210>	105	
<211>	38	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成多核苷酸	
<400>	105	
actagtcgac atggattttg ggctgatttt ttttattg		38
<210>	106	
<211>	32	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成多核苷酸	
<400>	106	
cccaagctta cgagggggaa gacatttggg aa		32
<210>	107	
<211>	35	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成多核苷酸	
<220>		
<221>	其它特徵	
<222>	(30)..(30)	
<223>	n為肌苷	
<400>	107	
cccaagcttc cagggrccar kggataracn grtgg		35
<210>	108	
<211>	32	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	合成多核苷酸	
<400>	108	
	gggaattcat gragwcacak wycaggtct tt	32
<210>	109	
<211>	33	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成多核苷酸	
<400>	109	
	gggaattcat ggagacagac acactcctgc tat	33
<210>	110	
<211>	39	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成多核苷酸	
<400>	110	
	actagtcgac atggagwcag acacactsct gytatgggt	39
<210>	111	
<211>	42	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成多核苷酸	
<220>		
<221>	其它特徵	
<222>	(37)..(37)	
<223>	n為肌苷	
<400>	111	
	actagtcgac atgaggrccc ctgctcagwt tyttggnwlc tt	42
<210>	112	
<211>	41	
<212>	DNA	

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成多核苷酸	
<400>	112	
	actagtcgac atgggcwtca agatgragtc acakwyycwg g	41
<210>	113	
<211>	39	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成多核苷酸	
<400>	113	
	actagtcgac atgagtggtgc ycactcaggt cctggsgtt	39
<210>	114	
<211>	41	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成多核苷酸	
<400>	114	
	actagtcgac atgtggggay cgktttyamm cttttcaatt g	41
<210>	115	
<211>	38	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成多核苷酸	
<400>	115	
	actagtcgac atggaagccc cagctcagct tctcttcc	38
<210>	116	
<211>	36	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成多核苷酸	

<220>		
<221>	其它特徵	
<222>	(16)..(16)	
<223>	n為肌苷	
<220>		
<221>	其它特徵	
<222>	(22)..(22)	
<223>	n為肌苷	
<220>		
<221>	其它特徵	
<222>	(28)..(28)	
<223>	n為肌苷	
<400>	116	
	actagtcgac atgagnmmkt cnmttcantt cytggg	36
<210>	117	
<211>	36	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成多核苷酸	
<220>		
<221>	其它特徵	
<222>	(22)..(22)	
<223>	n為肌苷	
<220>		
<221>	其它特徵	
<222>	(34)..(34)	
<223>	n為肌苷	
<400>	117	
	actagtcgac atgakgthcy cngctcagyt yctnrg	36
<210>	118	
<211>	35	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成多核苷酸	

<400> 118 actagtcgac atggtrtccw casctcagtt ccttg	35
<210> 119 <211> 37 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成多核苷酸	
<400> 119 actagtcgac atgtatatat gtttgttgtc tatttct	37
<210> 120 <211> 39 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成多核苷酸	
<400> 120 actagtcgac atgaagttgc ctgttaggct gttgggtgct	39
<210> 121 <211> 39 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成多核苷酸	
<400> 121 actagtcgac atggatttwc argtgcagat twtcagctt	39
<210> 122 <211> 37 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成多核苷酸	
<400> 122 actagtcgac atggtyctya tvtccttgct gttctgg	37

<210>	123	
<211>	37	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成多核苷酸	
<400>	123	
	actagtcgac atggttyctya tvtttrctgct gctatgg	37
<210>	124	
<211>	30	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成多核苷酸	
<400>	124	
	cccaagctta ctggatggtg ggaagatgga	30
<210>	125	
<211>	33	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成多核苷酸	
<400>	125	
	gggaattcat ggccctggayt ycwctywtmy tct	33
<210>	126	
<211>	32	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成多核苷酸	
<220>		
<221>	其它特徵	
<222>	(24)..(24)	
<223>	n為肌苷	
<400>	126	
	cccaagctta gctcytcwgw gganggyggr aa	32

【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種與人類MUC18結合之分離的抗體，其中該抗體包含重鏈可變區(V_H)，其包含SEQ ID NO: 11之胺基酸序列之重鏈互補決定區1 (heavy chain complementary determining region 1，HC CDR 1)、SEQ ID NO: 23之胺基酸序列之HC CDR2、以及SEQ ID NO: 35之胺基酸序列之HC CDR3，以及輕鏈可變區(V_L)，其包含SEQ ID NO: 45之胺基酸序列之輕鏈CDR 1 (LC CDR 1)、STS之胺基酸序列之LC CDR2、以及SEQ ID NO: 59之胺基酸序列之LC CDR 3。

【請求項2】如請求項1之分離的抗體，其中：(a)該V_H與SEQ ID NO: 77之胺基酸序列之V_H至少85%相同，及/或其中該V_L與SEQ ID NO: 78之胺基酸序列之V_L至少85%相同，可視需要地其中該分離的抗體包含SEQ ID NO: 77之胺基酸序列之V_H，及/或與該SEQ ID NO: 78之胺基酸序列之V_L相同的V_L；及/或(b)該抗體特异性結合人類MUC18；及/或(c)該抗體與人類MUC18以及非人類MUC18交叉反應，例如其中該非人類MUC18為靈長類MUC18；及/或(d)該抗體為單鏈抗體或全長抗體或其抗原結合片段，例如其中該抗體為IgG分子；及/或(e)該抗體為人類抗體、人源化抗體，或嵌合抗體，例如其中該抗體包含如SEQ ID NO: 1所示之V_H，及/或如SEQ ID NO: 4所示之V_L。

【請求項3】一種核酸或核酸組，其總體編碼如請求項1-2中任一項之抗MUC18抗體。

【請求項4】一種載體或載體組，其包含如請求項3之核酸，可視需要地其中該載體為表現載體。

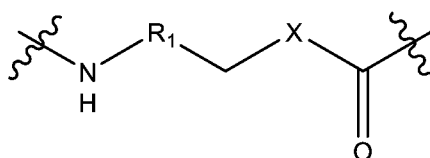
【請求項5】一種宿主細胞，其包含如請求項4之載體或載體組。

【請求項6】一種抗體-藥物結合物(antibody-drug conjugate，ADC)，包含：

- i. 如請求項1至2中任一項所述之抗體；以及
- ii. 至少一種治療劑；

其中該抗體與該至少一種治療劑共價結合，可視需要地其中該抗體及該治療劑透過連接子結合。

【請求項7】如請求項6之抗體-藥物結合物，其中：(a)該連接子為可裂解的或不可裂解的连接子，例如為(i)不可裂解的连接子，包含蛋白酶敏感的连接子、pH敏感的连接子，或麩胱甘肽敏感的连接子，或(ii)一可裂解的蛋白酶敏感的连接子，包含具有2至5個胺基酸的胜肽序列，可視需要地其中該2至5個胺基酸包含天然存在的胺基酸殘基、非天然存在的胺基酸殘基，或其組合或該胜肽序列包含纈胺酸-瓜胺酸；(b)該連接子為不可裂解的连接子，包含可視需要經取代的烷烴或硫醚；(c)該連接子包含與該抗體以及該連接子形成共價鍵的官能基團，例如其中該官能基團包含馬來醯亞胺基、碘乙醯胺基、乙烯基砜基、丙烯酸酯基、丙烯醯胺基、丙烯腈基，或甲基丙烯酸酯基；及/或(d)該連接子進一步包含如式I之分子間隔基：



(式I)

其中

R_1 為可視需要經取代的 C_{1-6} 烷基、可視需要經取代的苯基、可視需要經取代的 C_{2-6} 亞烷基、可視需要經取代的 C_{2-6} 亞烯基、可視需要經取代的 C_{2-6} 亞炔基，或可視需要經取代的三唑；以及

X 為O、S，或N。

【請求項8】如請求項6或7之抗體-藥物結合物，其中該至少一種治療劑為細胞毒性劑。

【請求項9】如請求項8之抗體-藥物結合物，其中該細胞毒性劑為單甲基奧利他汀E。

【請求項10】一種醫藥組合物包含如請求項1至2中任一項之抗體，如請求項3之核酸或核酸組，或如請求項6至9中任一項之抗體-藥物結合物。

【請求項11】一種如請求項10之醫藥組合物用於一種減少一個體中MUC18⁺細胞數量之方法，可視需要地其中該個體患有或懷疑患有癌症。

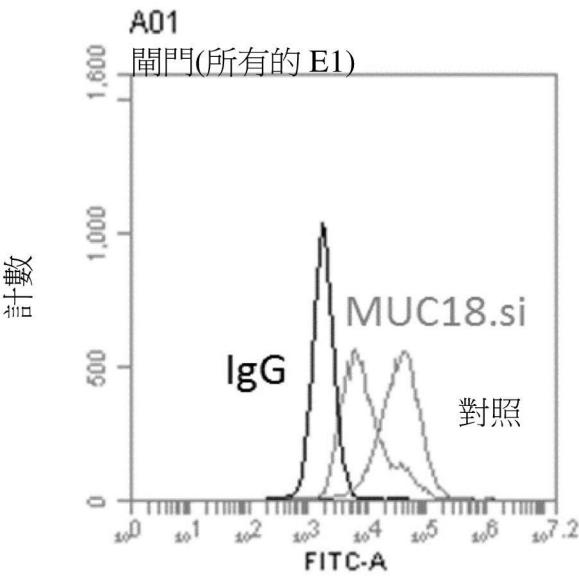
【請求項12】一種檢測MUC18⁺細胞存在之方法，該方法包含：

- i. 使懷疑具有MUC18⁺細胞的樣品與如請求項1至2中任一項之抗體接觸，其中該抗體與標記劑結合；以及
- ii. 基於該抗體與該樣品中細胞的結合，檢測該樣品中MUC18⁺細胞的存在。

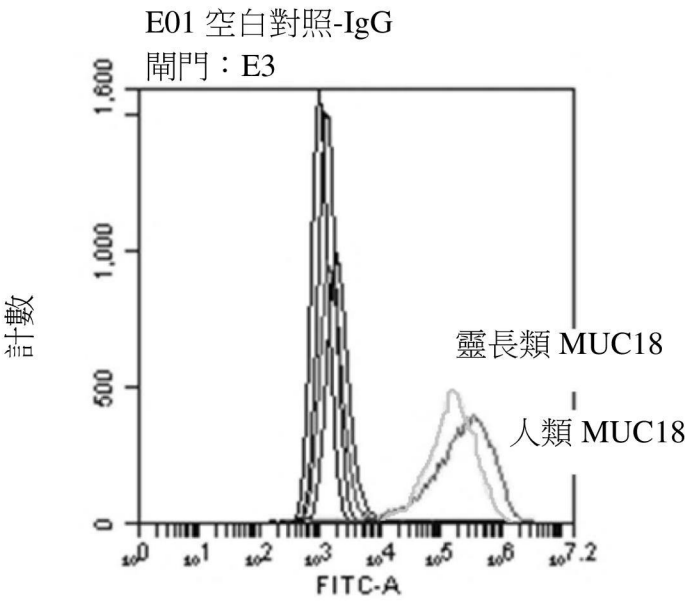
【請求項13】一種製備如請求項1-2中任一項的抗體或其抗原結合片段之方法，該方法包含：

- (a)培養如請求項5之細胞，以及
- (b)從所述培養細胞或培養基收獲所述抗體、其抗原結合片段。

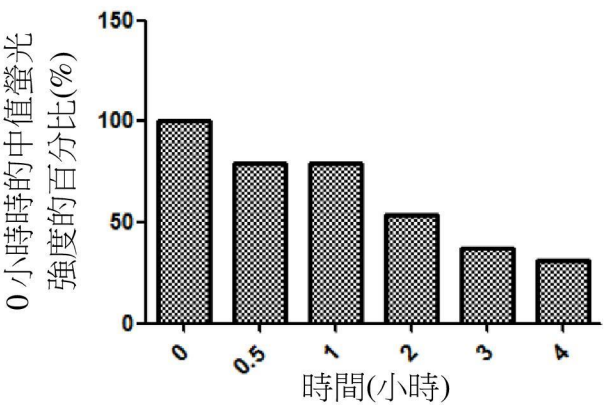
【發明圖式】



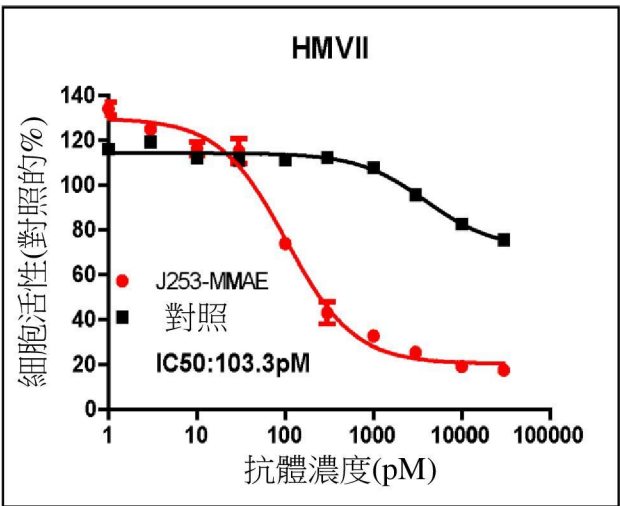
【圖1】



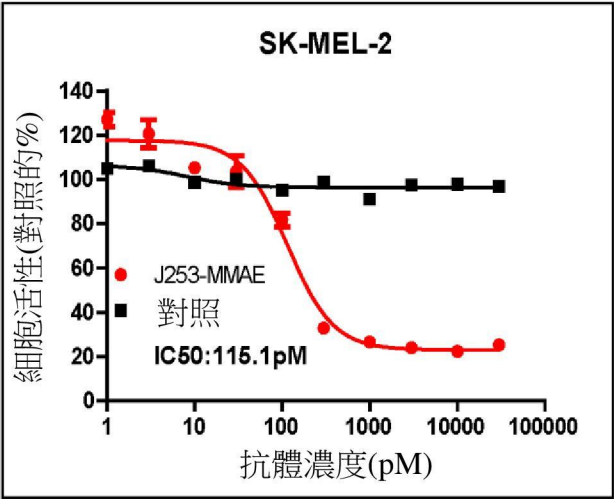
【圖2】



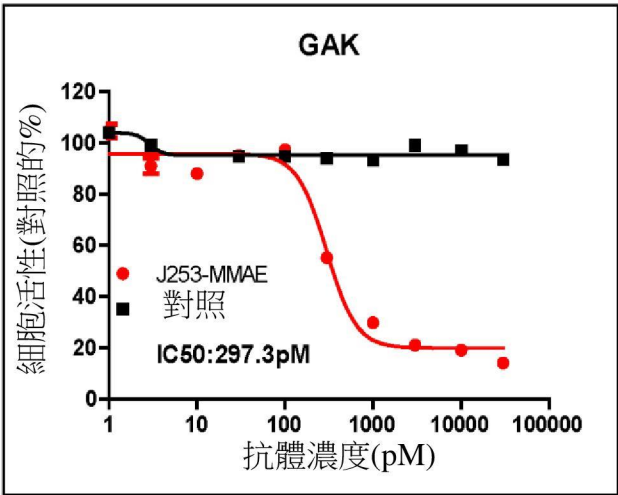
【圖3A】



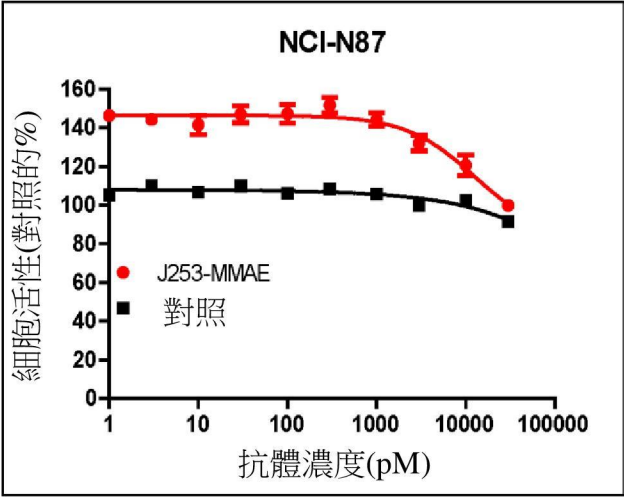
【圖3B】



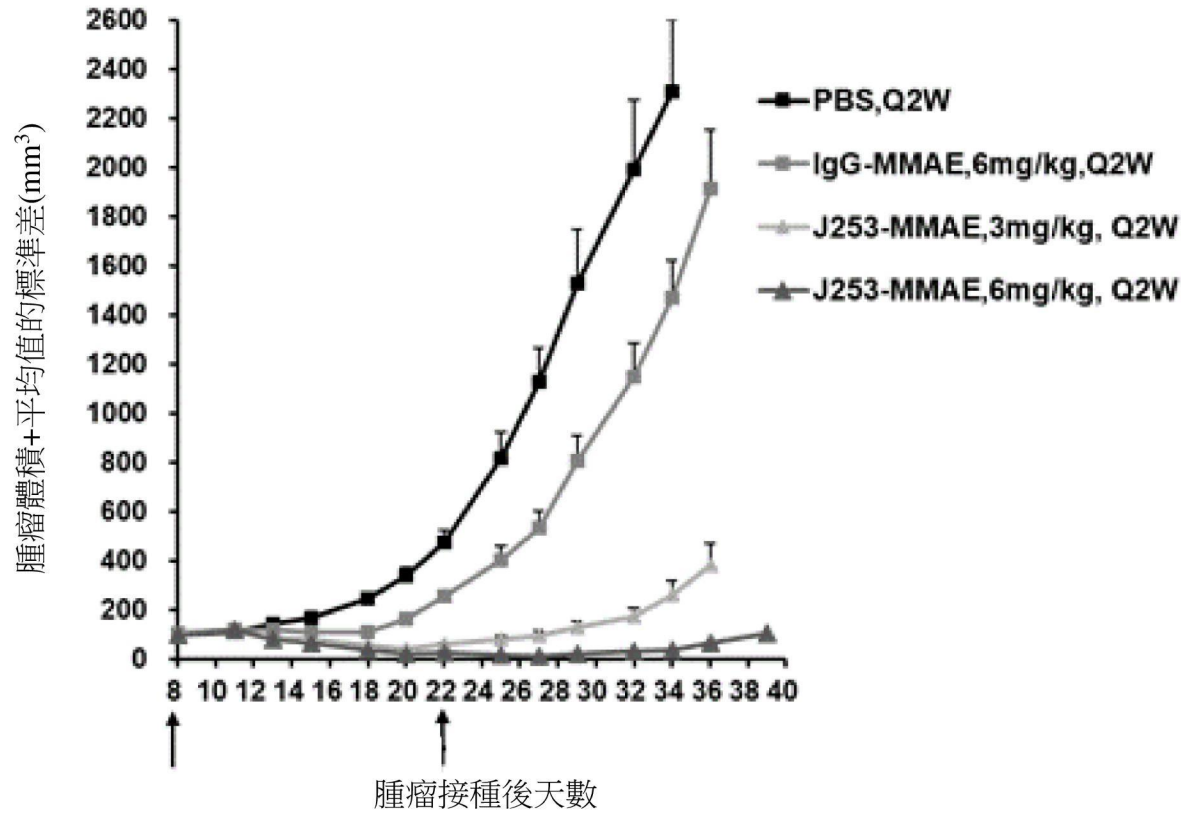
【圖3C】



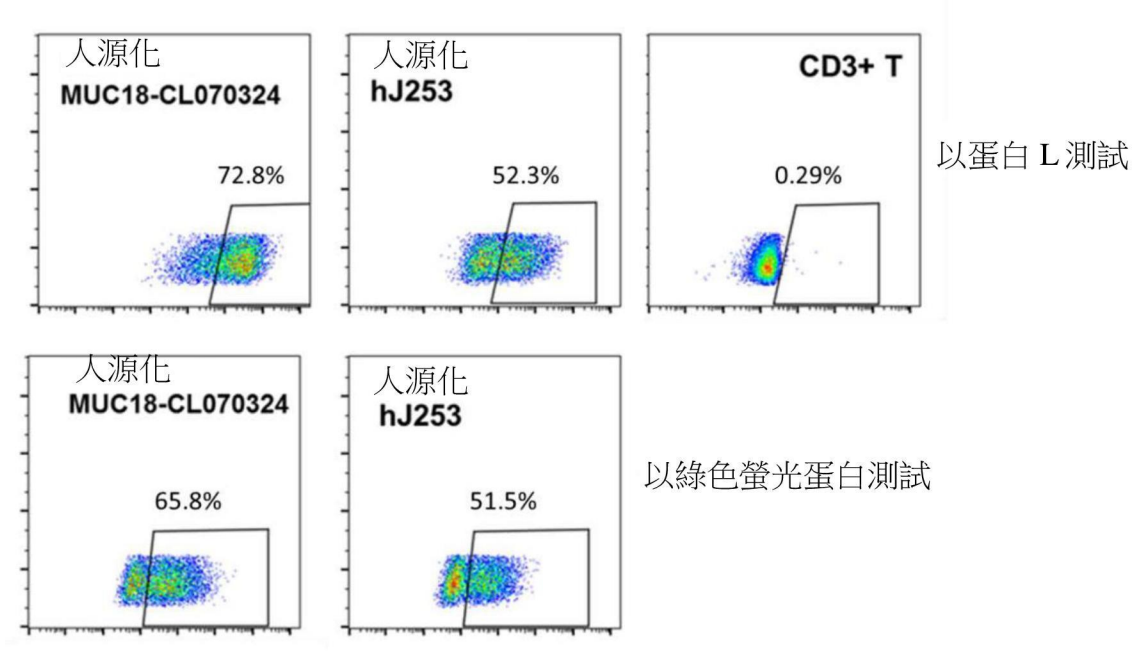
【圖3D】



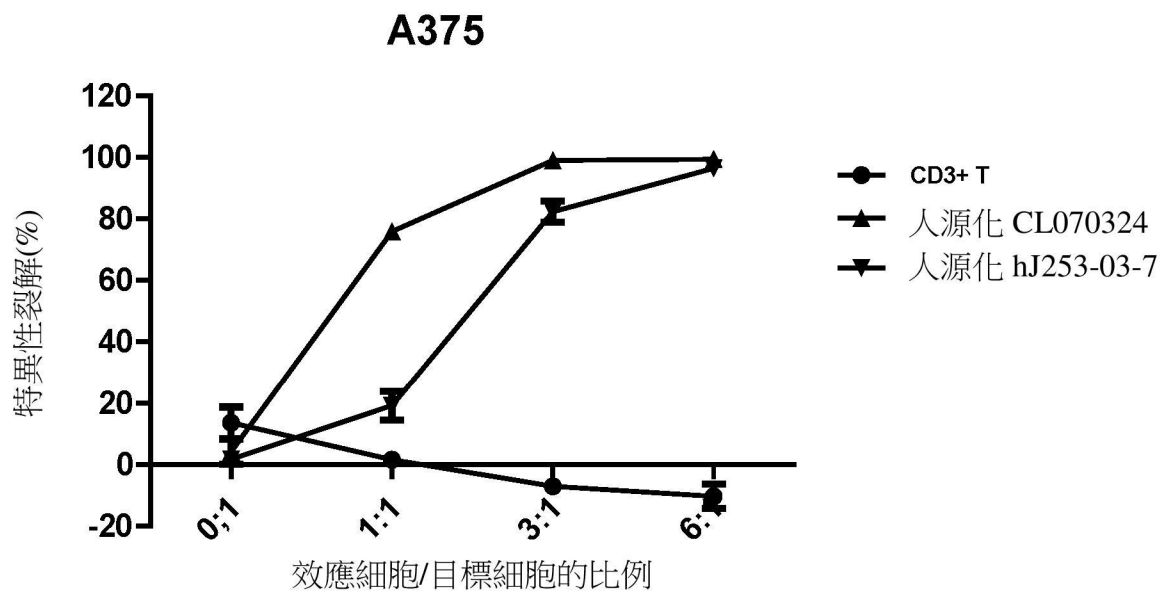
【圖3E】



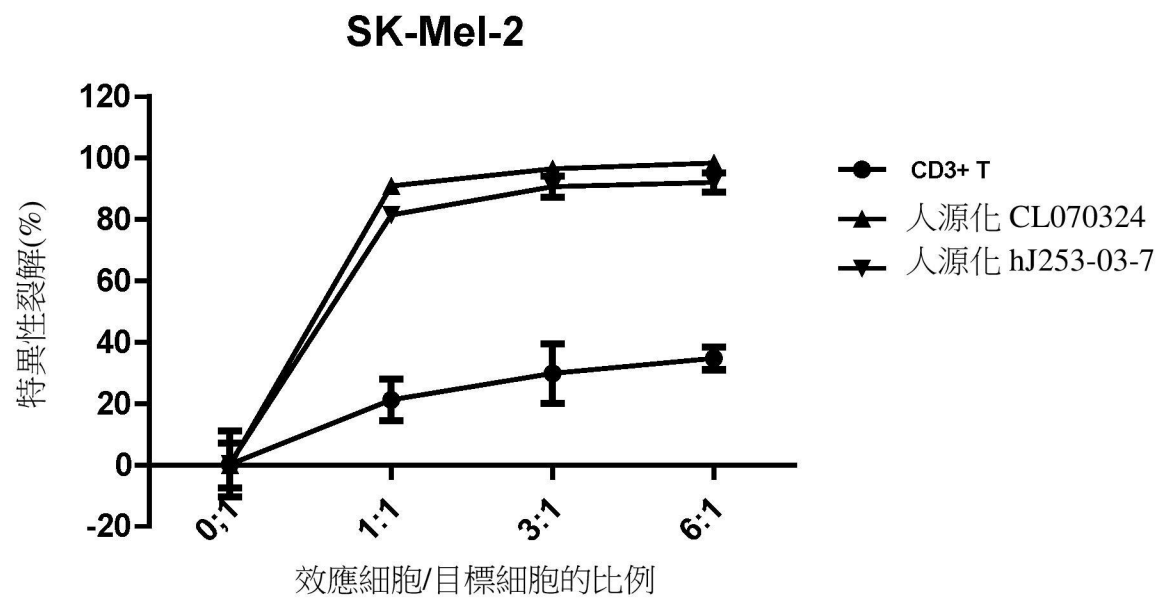
【圖4】



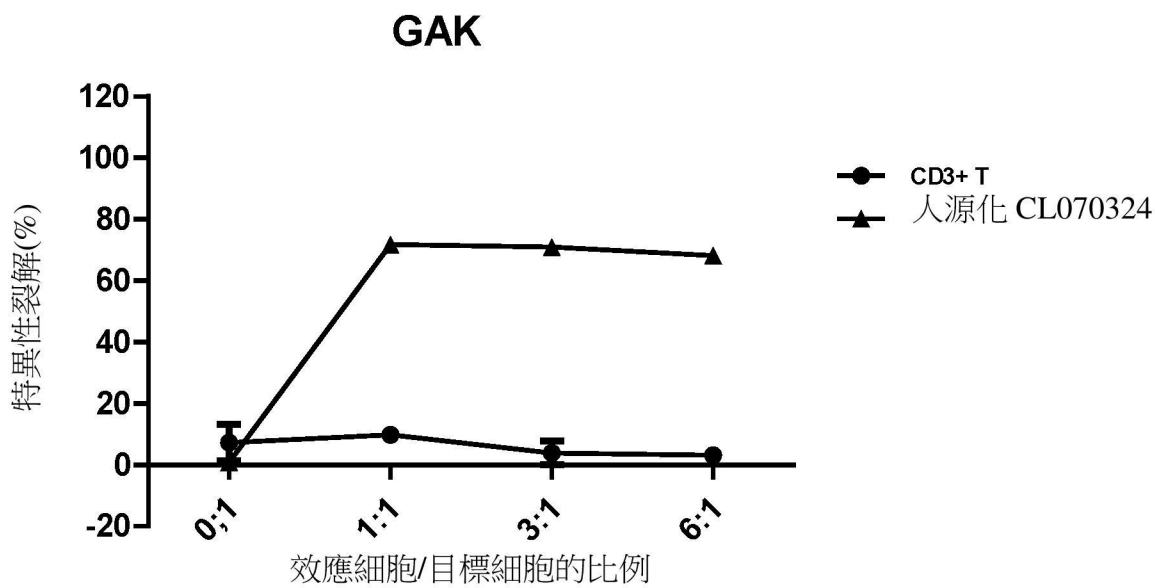
【圖5】



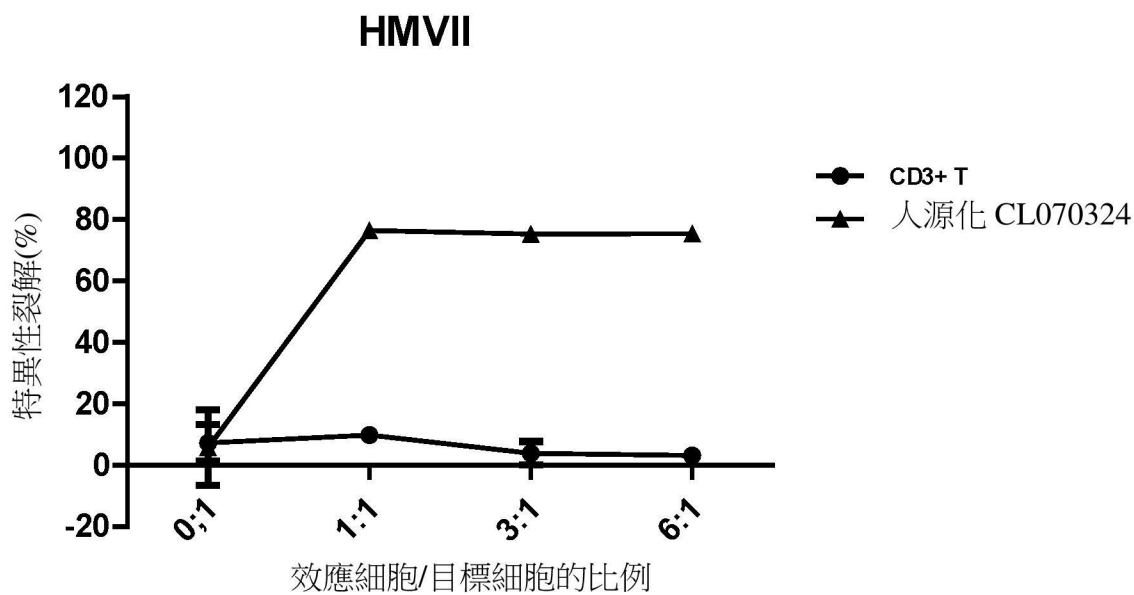
【圖6A】



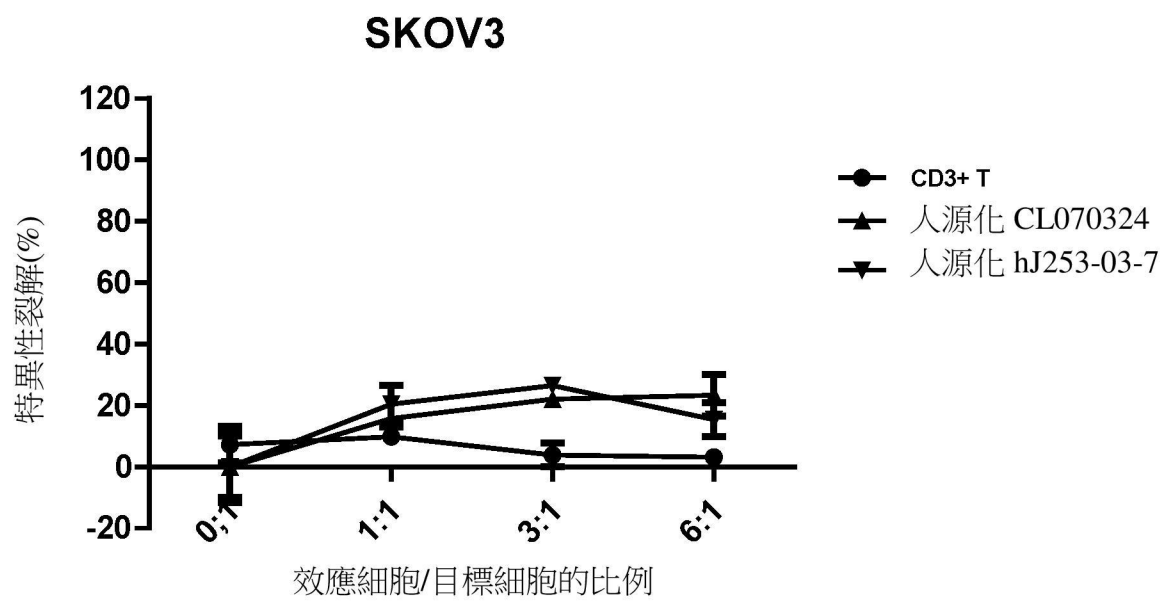
【圖6B】



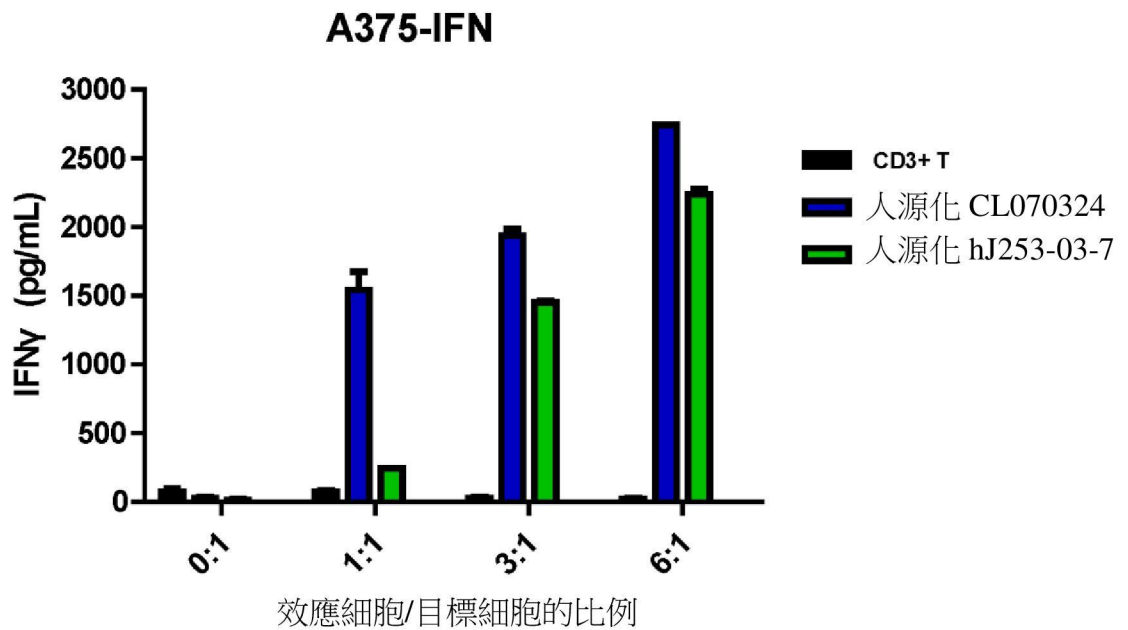
【圖6C】



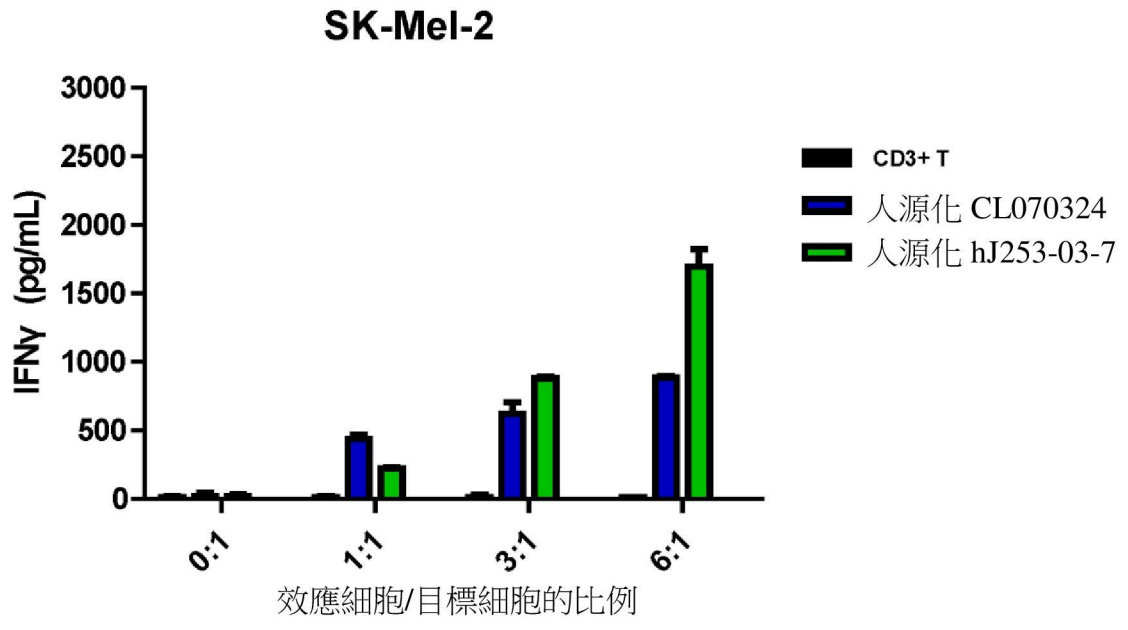
【圖6D】



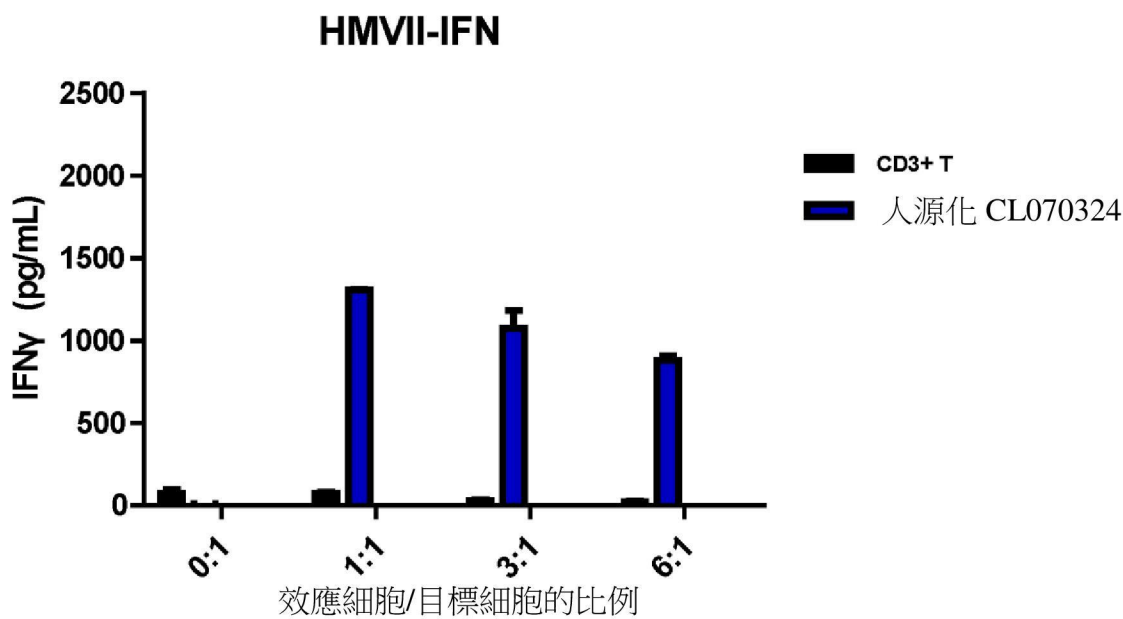
【圖6E】



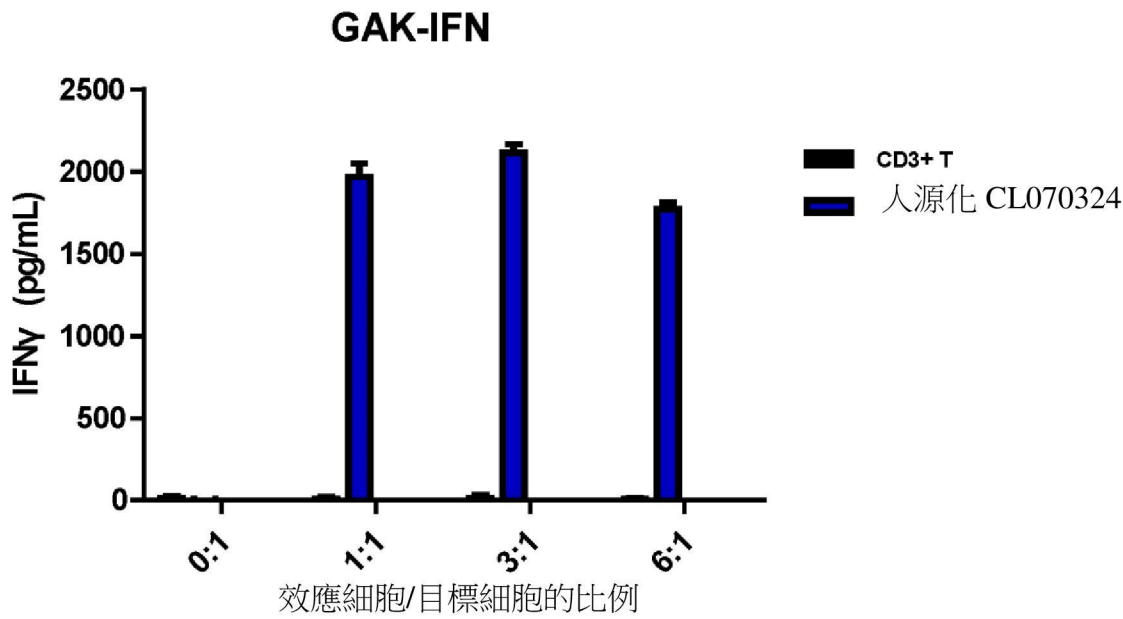
【圖7A】



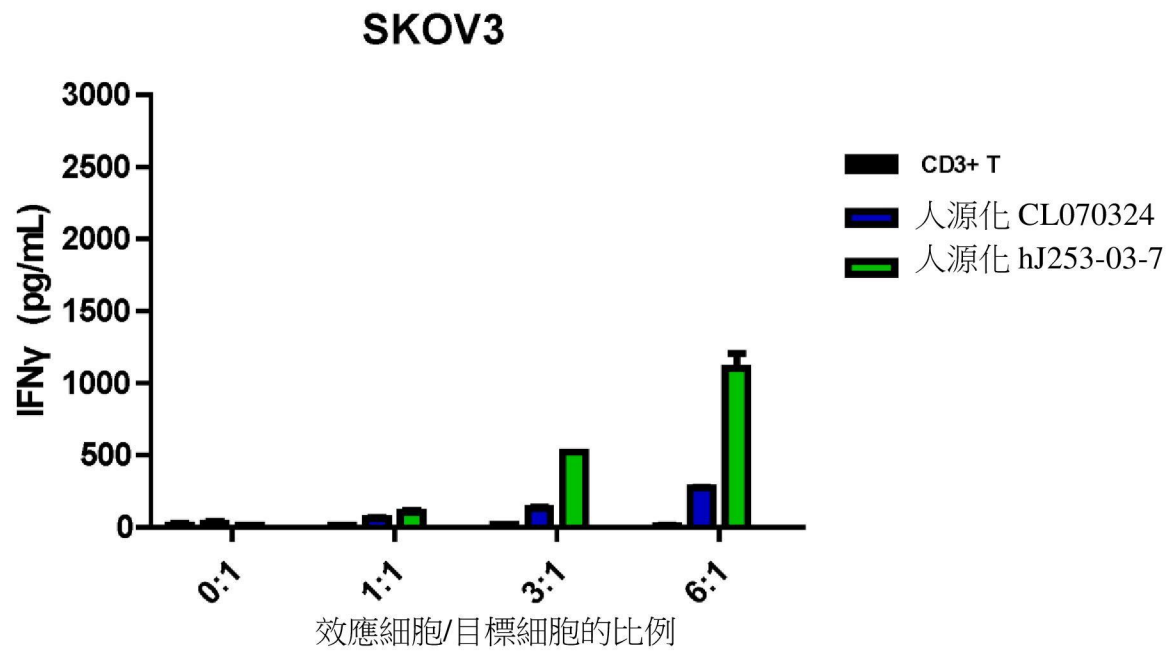
【圖7B】



【圖7C】



【圖7D】



【圖7E】