



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201718641 A

(43)公開日：中華民國 106 (2017) 年 06 月 01 日

(21)申請案號：105120598

(22)申請日：中華民國 105 (2016) 年 06 月 29 日

(51)Int. Cl. : C07K16/22 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2015/06/30 美國

62/187,204

(71)申請人：姜 偉東(美國) JIANG, WEI-DONG (US)

美國

林佩樺(中華民國) LIN, PEI HUA (TW)

美國

曾琪鈴(中華民國) TSENG, CHI LING (TW)

臺北市南港區園區街 8 號 3 樓之 3

(72)發明人：姜 偉東 JIANG, WEI-DONG (US)；林佩樺 LIN, PEI HUA (TW)；曾琪鈴 TSENG, CHI LING (TW)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：50 項 圖式數：28 共 224 頁

(54)名稱

抗血管內皮生長因子受體 2 (V E G F R 2) 抗體

ANTI-VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR RECEPTOR 2 (VEGFR2) ANTIBODIES

(57)摘要

本發明提供抗血管內皮生長因子受體 2(vascular endothelial growth factor receptor 2；VEGFR2)抗體及其抗原結合片段。亦提供編碼該等抗 VEGFR2 抗體或其抗原結合片段之經分離核酸分子、相關表現載體及宿主細胞。提供製備抗 VEGFR2 抗體及其抗原結合片段之方法。亦提供包括抗 VEGFR2 抗體(或其抗原結合片段)之相關醫藥組合物及其用於治療特徵在於過度血管生成之病理學病狀之方法。

Provided are anti-vascular endothelial growth factor receptor 2 (VEGFR2) antibodies, and antigen binding fragments thereof. Also provided are isolated nucleic acid molecules that encode the anti-VEGFR2 antibodies or antigen binding fragments thereof, related expression vectors, and host cells. Provided are methods of making anti-VEGFR2 antibodies and antigen binding fragments thereof. Also provided are related pharmaceutical compositions comprising anti-VEGFR2 antibodies (or antigen binding fragments thereof) and methods of their use in the treatment of pathological conditions characterized by excessive angiogenesis.

指定代表圖：

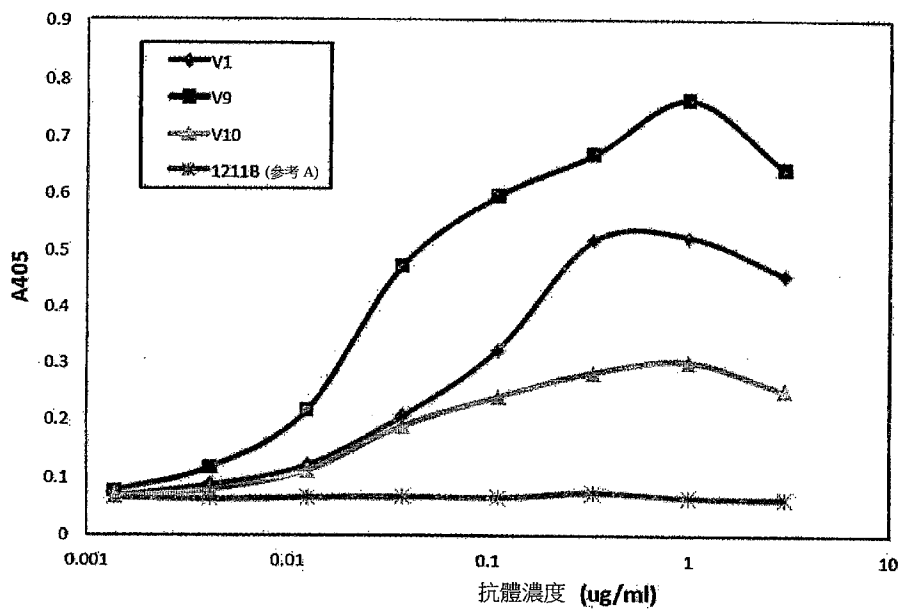


圖 1

201718641

發明摘要

※ 申請案號：105120598

※ 申請日：105.6.29

※ IPC 分類：

C07K 16/22 (2006.01)

A61K 39/5 (2006.01)

A61P 37/00 (2006.01)

【發明名稱】

抗血管內皮生長因子受體2 (VEGFR2) 抗體

ANTI-VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR

RECEPTOR 2 (VEGFR2) ANTIBODIES

【中文】

本發明提供抗血管內皮生長因子受體2 (vascular endothelial growth factor receptor 2 ; VEGFR2) 抗體及其抗原結合片段。亦提供編碼該等抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段之經分離核酸分子、相關表現載體及宿主細胞。提供製備抗VEGFR2抗體及其抗原結合片段之方法。亦提供包括抗VEGFR2抗體(或其抗原結合片段)之相關醫藥組合物及其用於治療特徵在於過度血管生成之病理學病狀之方法。

【英文】

Provided are anti-vascular endothelial growth factor receptor 2 (VEGFR2) antibodies, and antigen binding fragments thereof. Also provided are isolated nucleic acid molecules that encode the anti-VEGFR2 antibodies or antigen binding fragments thereof, related expression vectors, and host cells. Provided are methods of making anti-VEGFR2 antibodies and antigen binding fragments thereof. Also provided are related pharmaceutical compositions comprising anti-VEGFR2 antibodies (or antigen binding fragments thereof) and methods of their use in the treatment of pathological conditions characterized by excessive angiogenesis.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（1）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】

抗血管內皮生長因子受體2 (VEGFR2)抗體

ANTI-VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR

RECEPTOR 2 (VEGFR2) ANTIBODIES

【先前技術】

血管內皮生長因子受體(亦稱為VEGFR2、KDR、FLK1及CD309)係VEGF之細胞表面受體，其係三種密切相關之受體酪胺酸激酶(包含VEGFR1 (FLT、FLT1)、VEGFR2及VEGFR3 (FLT4、PCL))之子家族。VEGFR2至配體(例如VEGF A、C、D或E)之結合誘導VEGFR2之C-末端結構域中若乾酪胺酸(Y)殘基之受體二聚合及自身磷酸化。此自身磷酸化誘發若干信號轉導級聯之下游活化，從而引起內皮細胞增殖及遷移、血管滲透及血管生成。

VEGFR2或家族成員之突變、擴增或誤調節與上皮癌有關。舉例而言，已在肺腺癌中檢測到相對較高頻率(9%)之VEGFR2之突變及擴增。另外，NSCLC腫瘤中之研究展示肺腺癌及鱗狀細胞癌中之高頻率之VEGFR2拷貝數變化(32%)，該變化會引起較高VEGFR-2蛋白表現。VEGFR2作為癌基因之鑑別使得需要研發針對VEGFR2之抗癌療法。本發明滿足此需要及其他需要。

【發明內容】

本文提供一種抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段不阻斷VEGFR2至VEGF之結合。本文亦提供一種抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合VEGFR2之結構域5-7。本文亦提供一種抗VEGFR2抗體或其抗原結合

片段，其中該抗體或其抗原結合片段不阻斷VEGFR2至VEGF之結合，且其中該抗體或其抗原結合片段結合VEGFR2之結構域5-7。

在根據(或應用於)上文任一實施例之某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段結合至全HUVEC細胞。在根據(或應用於)上文任一實施例之某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段不抑制活體外血管生成。在根據(或應用於)上文任一實施例之某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段抑制活體內血管生成。在根據(或應用於)上文任一實施例之某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段不抑制活體外血管生成，且其中抗體或其抗原結合片段抑制活體內血管生成。

本文提供一種抗血管內皮生長因子受體2 (VEGFR2)抗體或其抗原結合片段，其包括：輕鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列RASQNIASYLN (SEQ ID NO: 76)或RASQSVS-S/N-S/N-YL-G/A (SEQ ID NO: 83)或TRSRGSIASSYVQ (SEQ ID NO: 80)或RSSQSL-L/V/Y-H/Y-G/S/R-D/N-G-N/K/Y-N/T-Y/F-LD (SEQ ID NO: 84)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列L/A/G/K/E-G/A/V/N/S-S/D-N/S/Q/K-R/L-A/K/D/P-S/T (SEQ ID NO: 60)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列M/Q-Q/S-A/S/R/G/Y-L/Y/S/A/D/G/T-Q/S/N/H/F-T/I/W/S-P/T-Y/L/P/V/G/I-T/V (SEQ ID NO: 72)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列T/S-Y-Y/G/A/S-M/I-H/N/S (SEQ ID NO: 34)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列I/V/G/S-I-N/S/I-P/Y/S/G-S/D/I-G/F/S-G/S-S/N/T/Y/A-T/K/A/I-S/Y/N/H-YA-Q/D-K/S-F/V-K/Q-G (SEQ ID NO: 40)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列GLWFGEGY (SEQ ID NO: 49)或ESYGGQFDY (SEQ ID NO: 43)或DLVVPAATLDY (SEQ ID NO: 42)或D/G-F/I-Y/I-E/V-A/G-G/P-G/T-W/D-Y/A-FD-L/I (SEQ ID NO: 51)或RDGSLGVGYYYMDF (SEQ ID NO: 50)或VGATTSLYYYYGMDV

(SEQ ID NO: 47)或 DGFGGLAVAGPYWYFDL (SEQ ID NO: 44)或 PTRSRDFWSGLGYYYMDV (SEQ ID NO: 45)之CDR-H3。

在根據(或應用於)上文任一實施例之某些實施例中，輕鏈可變結構域序列包括(1)包括選自由SEQ ID NO: 75-82組成之群之胺基酸序列之CDR-L1；(2)包括選自由SEQ ID NO: 54-59組成之群之胺基酸序列之CDR-L2；及(3)包括選自由SEQ ID NO: 63-71組成之群之胺基酸序列之CDR-L3；且重鏈可變結構域序列包括(1)包括選自由SEQ ID NO: 29-33及85組成之群之胺基酸序列之CDR-H1；(2)包括選自由SEQ ID NO: 35-39及125組成之群之胺基酸序列之CDR-H2；及(3)包括選自由SEQ ID NO: 42-50組成之群之胺基酸序列之CDR-H3。

在根據(或應用於)上文任一實施例之某些實施例中，輕鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列RSSQSL LHGNGNNYLD (SEQ ID NO: 75)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列LGSNRAS (SEQ ID NO: 54)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列MQALQTPYT (SEQ ID NO: 63)之CDR-L3；且重鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列 TYMH (SEQ ID NO: 29)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列 IINPSGGSTSYAQKFQG (SEQ ID NO: 36)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列DLVVPAATLDY (SEQ ID NO: 42)之CDR-H3。

在根據(或應用於)上文任一實施例之某些實施例中，輕鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列RASQNIASYN (SEQ ID NO: 76)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列AASSLKS (SEQ ID NO: 55)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列QQSYSIPYT (SEQ ID NO: 64)之CDR-L3；且重鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列SYGMH (SEQ ID NO: 30)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO: 37)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列ESYGGQFDY (SEQ ID NO: 43)之CDR-H3。

在根據(或應用於)上文任一實施例之某些實施例中，輕鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列RASQSVSNLYLG (SEQ ID NO: 77)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列GASSRAT (SEQ ID NO: 56)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列QQRSNWPLT (SEQ ID NO: 65)之CDR-L3；且重鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列SYAMH (SEQ ID NO: 31)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO: 37)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列DGFGGLAVAGPYWYFDL (SEQ ID NO: 44)之CDR-H3。

在根據(或應用於)上文任一實施例之某些實施例中，輕鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列RSSQSLVYSDGKTYLD (SEQ ID NO: 78)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列KVSNRDS (SEQ ID NO: 57)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列MQGAHWPT (SEQ ID NO: 66)之CDR-L3；且重鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列SYAIS (SEQ ID NO: 85)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列GIPIFGTANYAQKFQG (SEQ ID NO: 38)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列PTRSRDFWSGLGYYYMDV (SEQ ID NO: 45)之CDR-H3。

在根據(或應用於)上文任一實施例之某些實施例中，輕鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO: 79)之CDR-L1；(2)包括GASSRAT (SEQ ID NO: 56)中所陳述之胺基酸序列之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列QQRSNWPPT (SEQ ID NO: 67)之CDR-L3；且重鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列SYGMH (SEQ ID NO: 30)之CDR-H1；(2)包括VISYDGSNKHYADSVKG (SEQ ID NO: 125)中所陳述之胺基酸序列之CDR-H2；及(3)包括DFYEAGGWYFDL (SEQ ID NO: 46)中所陳述之胺基酸序列之CDR-H3。

在根據(或應用於)上文任一實施例之某些實施例中，輕鏈可變結

構域序列包括(1)包括胺基酸序列TRSRGSIASSYVQ (SEQ ID NO: 80)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列ENDQRPS (SEQ ID NO: 58)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列QSYDFSTVV (SEQ ID NO: 68)之CDR-L3；且重鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列SYAIS (SEQ ID NO: 85)之CDR-H1；(2) 包括GIIPIFGTANYAQKFQG (SEQ ID NO: 38)中所陳述之胺基酸序列之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列VGATTSLYYYYGMDV (SEQ ID NO: 47)之CDR-H3。

在根據(或應用於)上文任一實施例之某些實施例中，輕鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO: 79)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列GASSRAT (SEQ ID NO: 56)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列QQYGSSPGT (SEQ ID NO: 69)之CDR-L3；且重鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列SYSMN (SEQ ID NO: 28)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列SISSSSSYIYYADSVKG (SEQ ID NO: 35)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列GIIVGPTDAFDI (SEQ ID NO: 48)之CDR-H3。

在根據(或應用於)上文任一實施例之某些實施例中，輕鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列RSSQSLYYRDGYTFLD (SEQ ID NO: 81)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列LSSKRDS (SEQ ID NO: 59)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列MQGTHWPYT (SEQ ID NO: 70)之CDR-L3；且重鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列TYAMS (SEQ ID NO: 33)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列GISGSGGATHYADSVKG (SEQ ID NO: 39)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列GLWFGEGY (SEQ ID NO: 49)之CDR-H3。

在根據(或應用於)上文任一實施例之某些實施例中，輕鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列RSSQSLLYSNGYNYLD (SEQ ID NO: 82)之CDR-L1；(2) LGSNRAS (SEQ ID NO: 54)之CDR-L2包括胺基酸

序列；及(3)包括胺基酸序列MQALQTPIT (SEQ ID NO: 71)之CDR-L3；且重鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列SYAIS (SEQ ID NO: 85)之CDR-H1；(2) 2包括胺基酸序列GIIPFGTANYAQKFQG (SEQ ID NO: 38) 之 CDR-H；及(3)包括胺基酸序列RDGSLGVGYYYMDF (SEQ ID NO: 50)之CDR-H3。

本文提供一種抗血管內皮生長因子受體2 (VEGFR2)抗體或抗原結合片段，其係包括以下之抗VEGFR2抗體之變體：輕鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列QSLYYR-D/S-GYTF (SEQ ID NO: 22)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列L/Q/R-SS (SEQ ID NO: 23)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列M/L/F-QGTHWPYT (SEQ ID NO: 24)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列G/R-F-S/T/P-FSTYA (SEQ ID NO: 25)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列I-S/N-G-S/N-G/S-G/Q-A/T-T (SEQ ID NO: 26)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列KGLWFGEG-Y/L/I (SEQ ID NO: 27)之CDR-H3，其中該變體在SEQ ID NO: 22、23、24、25、26及/或27中之一或多者中包括至少一個胺基酸取代。

亦提供競爭性抑制第二抗VEGFR2抗體至VEGFR2之結合之抗血管內皮生長因子受體2 (VEGFR2)抗體或其抗原結合片段，其中該抗VEGFR2抗體包括：輕鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列QSLYYR-D/S-GYTF (SEQ ID NO: 22)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列L/Q/R-SS (SEQ ID NO: 23)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列M/L/F-QGTHWPYT (SEQ ID NO: 24)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列G/R-F-S/T/P-FSTYA (SEQ ID NO: 25)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列I-S/N-G-S/N-G/S-G/Q-A/T-T (SEQ ID NO: 26)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列KGLWFGEG-Y/L/I (SEQ ID NO: 27)之CDR-H3。

本文亦提供特異性結合至與第二抗VEGFR2抗體結合VEGFR2相同之VEGFR2表位之抗血管內皮生長因子受體2 (VEGFR2)抗體或其抗原結合片段，其中第二抗VEGFR2抗體包括：輕鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列QSLYYR-D/S-GYTF (SEQ ID NO: 22)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列L/Q/R-SS (SEQ ID NO: 23)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列M/L/F-QGTHWPYT (SEQ ID NO: 24)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列G/R-F-S/T/P-FSTYA (SEQ ID NO: 25)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列I-S/N-G-S/N-G/S-G/Q-A/T-T (SEQ ID NO: 26)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列KGLWFGEG-Y/L/I (SEQ ID NO: 27)之CDR-H3。

在根據(或應用於)上文任一實施例之某些實施例中，該抗體或其抗原結合片段包括：輕鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列QSLYYR-D/S-GYTF (SEQ ID NO: 22)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列L/Q/R-SS (SEQ ID NO: 23)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列M/L/F-QGTHWPYT (SEQ ID NO: 24)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列G/R-F-S/T/P-FSTYA (SEQ ID NO: 25)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列I-S/N-G-S/N-G/S-G/Q-A/T-T (SEQ ID NO: 26)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列KGLWFGEG-Y/L/I (SEQ ID NO: 27)之CDR-H3，其中該變體在SEQ ID NO: 22、23、24、25、26及/或27中之一或多者中包括至少一個胺基酸取代。

在根據(或應用於)上文任一實施例之某些實施例中，該抗體或其抗原結合片段包括：輕鏈可變結構域序列，其包括(1)包括選自由SEQ ID NO: 1及16組成之群之胺基酸序列之CDR-L1；(2)包括選自由SEQ ID NO: 2、7及8組成之群之胺基酸序列之CDR-L2；及(3)包括選自由SEQ ID NO: 3、9及12組成之群之胺基酸序列之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括(1)包括選自由SEQ ID NO: 4、13、14及15組成

之群之胺基酸序列之CDR-H1；(2)包括選自由SEQ ID NO: 5、7、17、18、19、20及21組成之群之胺基酸序列之CDR-H2；(3)包括選自由SEQ ID NO: 6、10及11組成之群之胺基酸序列之CDR-H3。

在根據(或應用於)上文任一實施例之某些實施例中，該抗體或其抗原結合片段包括輕鏈可變結構域序列：其包括(1)包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO: 1)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列LSS (SEQ ID NO: 2)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列MQGTHWPYT (SEQ ID NO: 3)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列ISGSGGAT (SEQ ID NO: 5)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 6)之CDR-H3。

在根據(或應用於)上文任一實施例之某些實施例中，該抗體或其抗原結合片段包括：輕鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO:1)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列MQGTHWPYT (SEQ ID NO: 3)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列ISGSGGAT (SEQ ID NO: 5)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列KGLWFGEGY (SEQ ID NO:6)之CDR-H3。

在根據(或應用於)上文任一實施例之某些實施例中，該抗體或其抗原結合片段包括：輕鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO: 1)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列LQGTHWPYT (SEQ ID NO: 9)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列ISGSGGAT (SEQ ID NO: 5)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列

KGLWFGEGGL (SEQ ID NO: 10)之CDR-H3。

在根據(或應用於)上文任一實施例之某些實施例中，該抗體或其抗原結合片段包括：輕鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO: 1)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列FQGTHWPYT (SEQ ID NO: 12)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列ISGSGGAT (SEQ ID NO: 5)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 6)之CDR-H3。

在根據(或應用於)上文任一實施例之某些實施例中，該抗體或其抗原結合片段包括：輕鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO:1)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列LQGTHWPYT (SEQ ID NO: 9)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列ISGSGGAT (SEQ ID NO: 5)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 6)之CDR-H3。

在根據(或應用於)上文任一實施例之某些實施例中，該抗體或其抗原結合片段包括：輕鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列QSLYYRSGYTF (SEQ ID NO: 16)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列MQGTHWPYT (SEQ ID NO: 3)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列RFSFSTYA (SEQ ID NO: 15)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列ISGSGQAT (SEQ ID NO: 20)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 6)之CDR-H3。

在根據(或應用於)上文任一實施例之某些實施例中，該抗體或其

抗原結合片段包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列 QSLYYRSGYTF (SEQ ID NO: 16)之CDR-L1；包括胺基酸序列 QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及包括胺基酸序列 FQGTHWPYT (SEQ ID NO: 12)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列 GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；包括胺基酸序列 ISGSGGTT (SEQ ID NO: 21)之CDR-H2；及包括胺基酸序列 KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 6)之CDR-H3。

在根據(或應用於)上文任一實施例之某些實施例中，該抗體或其抗原結合片段包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列 QSLYYRSGYTF (SEQ ID NO: 16)之CDR-L1；包括胺基酸序列 QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及包括胺基酸序列 FQGTHWPYT (SEQ ID NO: 12)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列 GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；包括胺基酸序列 ISGSGGTT (SEQ ID NO: 21)之CDR-H2；及包括胺基酸序列 KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 10)之CDR-H3。

在根據(或應用於)上文任一實施例之某些實施例中，該抗體包括人類IgG之Fc序列。在根據(或應用於)上文任一實施例之某些實施例中，該抗原結合片段係選自由以下組成之群：Fab、Fab'、F(ab)'₂、單鏈Fv (scFv)、Fv片段、雙價抗體及線性抗體。在根據(或應用於)上文任一實施例之某些實施例中，該抗體係多特異性抗體。

在根據(或應用於)上文任一實施例之某些實施例中，根據上文任一實施例之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段偶聯至治療劑。在根據(或應用於)上文任一實施例之某些實施例中，該抗體或其抗原結合片段偶聯至標記。在根據(或應用於)上文任一實施例之某些實施例中，該標記係選自由以下組成之群：放射性同位素、螢光染劑及酶。

本文提供編碼根據(或應用於)上文任一實施例之抗VEGFR2抗體

或其抗原結合片段之經分離核酸分子。亦提供編碼根據(或應用於)上文任一實施例之核酸分子之表現載體。本文提供係包括根據(或應用於)上文任一實施例之表現載體之細胞。本文提供產生抗VEGFR2抗體之方法，其包括培養根據(或應用於)上文任一實施例之細胞且自細胞培養物回收抗VEGFR2抗體。

提供一種組合物，其包括根據(或應用於)上文任一實施例之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段及醫藥上可接受之載劑。亦提供係藉由以下方式來檢測來自患者之試樣中之VEGFR2蛋白之方法：使根據(或應用於)上文任一實施例之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段與試樣接觸且檢測結合至VEGFR2蛋白之抗VEGFR2抗體。在根據(或應用於)上文任一實施例之某些實施例中，該抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段係用於免疫組織化學分析(IHC)或ELISA分析中。

本文提供係治療個體之特徵在於過度血管生成之病理學病狀之方法，其包括向個體投與有效量之根據(或應用於)上文任一實施例之組合物。在根據(或應用於)上文任一實施例之某些實施例中，特徵在於過度血管生成之病理學病狀係選自由以下組成之群：癌症、眼部疾病或發炎。在根據(或應用於)上文任一實施例之某些實施例中，特徵在於過度血管生成之病理學病狀係癌症。在根據(或應用於)上文任一實施例之某些實施例中，癌症係結腸癌、結腸直腸癌、胃癌、胃食管癌、膀胱癌、肺癌或實體腫瘤。在根據(或應用於)上文任一實施例之某些實施例中，向個體進一步投與選自由以下組成之群之治療劑：抗腫瘤劑、化學治療劑、生長抑制劑及細胞毒性劑。在根據(或應用於)上文任一實施例之某些實施例中，癌症係非小細胞肺癌(NSCLC)。

【圖式簡單說明】

圖1展示經實施以比較抗VEGFR2抗體V1、V9、V10及1121B (參考A)至VEGFR2結構域5-7之結合之ELISA之結果。

圖2展示經實施以評價抗VEGFR2抗體V1、V2、V3、V4、V5、V6、V7、V8、V9、V10及1121B (參考A)抑制VEGF至VEGFR2之結合之能力之ELISA之結果。

圖3展示經實施以比較V9、1121B (參考A)及1121N (參考B)結合全HUVEC細胞之能力之分析之結果。

圖4展示經實施以比較V1、V2、V6、V7、V8、V9、V10及1121B (參考A)對HUVEC遷移之效應之分析之結果。

圖5展示經實施以比較V1、V2、V6、V7、V8、V9、V10及1121B (參考A)對HUVEC存活之效應之分析之結果。

圖6展示經實施以比較V1、V2、V6、V7、V8、V9、V10及1121B (參考A)對HUVEC增殖之效應之分析之結果。

圖7展示經實施以比較V9及1121B (參考A)對活體內血管生成之效應之分析之結果。

圖8繪示量測V1、V9、V10及1121B (參考A)抑制腫瘤生長之能力之HCT-116腫瘤異種移植植物分析之結果。

圖9展示經實施以比較抗VEGFR2抗體V9、29、30、32、34及67至VEGFR2之結合之ELISA之結果。

圖10A展示經實施以比較抗VEGFR2抗體V9/V9 (LC/HC)、V9/29 (LC/HC)、34/V9 (LC/HC)、67/V9 (LC/HC)、29/34 (LC/HC)、34/34 (LC/HC)、67/34 (LC/HC)、1121B (參考A)、抗PDGFR α 抗體及爾必得舒(ERBITUX) (亦即，及抗EGFR抗體)至VEGFR2之結合之ELISA之結果。圖10B展示經實施以比較抗VEGFR2抗體V9/V9 (LC/HC)、V9/29 (LC/HC)、34/V9 (LC/HC)、67/V9 (LC/HC)、29/34 (LC/HC)、34/34 (LC/HC)、67/34 (LC/HC)、1121B (參考A)、抗PDGFR α 抗體及爾必得舒(亦即，及抗EGFR抗體)至VEGFR2之結合之第二組ELISA之結果。

圖11A展示經實施以評價抗VEGFR2抗體V9/V9 (LC/HC)、V9/29

(LC/HC)、34/V9 (LC/HC)、67/V9 (LC/HC)、29/34 (LC/HC)、34/34 (LC/HC)、67/34 (LC/HC)、1121B (參考A)、1211N (參考B)及癌思停 (Avastin) (亦即抗VEGF)抑制活體外HUVEC增殖之能力之分析之結果。圖11B展示圖11A中所測試之每一抗體之增殖之抑制%。

圖12A展示經實施以評價抗VEGFR2抗體V9/V9 (LC/HC)、V9/29 (LC/HC)、34/V9 (LC/HC)、67/V9 (LC/HC)、29/34 (LC/HC)、34/34 (LC/HC)、67/34 (LC/HC)、1121B (參考A)、1211N (參考B)及癌思停 (亦即抗VEGF)抑制活體外HUVEC存活之能力之分析之結果。圖12B展示圖12A中所測試之每一抗體之存活之抑制%。

圖13A展示經實施以比較抗VEGFR2抗體34/80A (LC/HC)、34/80B (LC/HC)、34/86A (LC/HC)、34/86B (LC/HC)、29/88 (LC/HC)、109/109 (LC/HC)、110A/110A (LC/HC)、110B/110B (LC/HC)、29/V9 (LC/HC)、34/34 (LC/HC)、67/34 (LC/HC)及1121B (參考A)至VEGFR2之結合之ELISA之結果。圖13B提供不含1121B (參考A)之圖13A之結果。圖13C展示經實施以比較抗VEGFR2抗體34/80A (LC/HC)、34/80B (LC/HC)、34/86A (LC/HC)、34/86B (LC/HC)、29/88 (LC/HC)、109/109 (LC/HC)、110A/110A (LC/HC)、110B/110B (LC/HC)、29/V9 (LC/HC)、34/34 (LC/HC)、67/34 (LC/HC)及1121B (參考A)至VEGFR2之結合之第二組ELISA之結果。圖13D提供不含1121B (參考A)之圖13C之結果。

圖14A展示經實施以比較抗VEGFR2抗體34/80A (LC/HC)、34/80B (LC/HC)、34/86A (LC/HC)、34/86B (LC/HC)、29/88 (LC/HC)、109/109 (LC/HC)、110A/110A (LC/HC)、110B/110B (LC/HC)、29/V9 (LC/HC)、34/34 (LC/HC)、67/34 (LC/HC)及1121B (參考A)至VEGFR2之結合之ELISA之結果。圖14B提供不含1121B (參考A)之圖14A之結果。圖14C展示經實施以比較抗VEGFR2抗體34/80A

(LC/HC)、34/80B (LC/HC)、34/86A (LC/HC)、34/86B (LC/HC)、29/88 (LC/HC)、109/109 (LC/HC)、110A/110A (LC/HC)、110B/110B (LC/HC)、29/V9 (LC/HC)、34/34 (LC/HC)、67/34 (LC/HC)及1121B (參考A)至VEGFR2之結合之第二組ELISA之結果。圖14D提供不含1121B (參考A)之圖14C之結果。

圖15展示經實施以比較34/V9 (LC/HC)、109/109 (LC/HC)、110/110A (LC/HC)、110/110B (LC/HC)、1121B (參考A)及1121N (參考B)結合全HUVEC細胞之能力之分析之結果。

圖16A展示經實施以評價抗VEGFR2抗體V9/V9 (LC/HC)、V9/29 (LC/HC)、34/V9 (LC/HC)、67/V9 (LC/HC)、29/34 (LC/HC)、34/34 (LC/HC)、67/34 (LC/HC)、1121B (參考A)、1211N (參考B)及癌思停 (亦即抗VEGF)抑制活體外HUVEC增殖之能力之分析之結果。圖16B展示圖16A中所測試之每一抗體之增殖之抑制%。

圖17A展示經實施以評價抗VEGFR2抗體V9/V9 (LC/HC)、V9/29 (LC/HC)、34/V9 (LC/HC)、67/V9 (LC/HC)、29/34 (LC/HC)、34/34 (LC/HC)、67/34 (LC/HC)、1121B (參考A)、1211N (參考B)及癌思停 (亦即抗VEGF)抑制活體外HUVEC存活之能力之分析之結果。圖17B展示圖17A中所測試之每一抗體之存活之抑制%。

圖18A展示經實施以評價34/V9 (LC/HC)、109/109 (LC/HC)、110A/110A (LC/HC)、110B/110B (LC/HC) 1121B (參考A)、1121N (參考B)及對照抗體(HLX02)結合小鼠VEGFR2之能力之ELISA之結果。圖18B展示兩組重複ELISA之結果。

圖19A展示經實施以比較110B/110B (LC/HC)及1121N (參考B)抑制VEGFR2磷酸化之能力之分析之結果。圖19B提供圖19A之定量結果。

圖20展示經實施以比較V9、34/80B (LC/HC)、34/86A (LC/HC)、

34/86B (LC/HC)、29/88 (LC/HC)、109/109 (LC/HC)、110/110A (LC/HC)、110/110B (LC/HC)、1121N (參考B)及癌思停對HUVEC遷移之效應之分析之結果。

圖21繪示量測34/V9 (LC/HC)、109/109 (LC/HC)、110A/110A (LC/HC)、110B/110B (LC/HC) 1121B (參考A)及1121N (參考B)抑制腫瘤生長之能力之HCT-116腫瘤異種移植物分析之結果。

圖22繪示量測34/V9 (LC/HC)、109/109 (LC/HC)、110A/110A (LC/HC)、110B/110B (LC/HC) 1121B (參考A)及1121N (參考B)抑制腫瘤生長之能力之HCT-116腫瘤異種移植物分析之結果。

圖23A展示針對34/V9 (LC/HC)之不同調配物實施之穩定性測試之結果。圖23B展示針對110/110B (LC/HC)之不同調配物實施之穩定性測試之結果。

圖24A展示經實施以測定抗體110/110B是否能夠結合VEGFR1之實驗之結果。圖24B展示經實施以測定抗體110/110B是否能夠結合VEGFR3之實驗之結果。

圖25展示經實施以測定抗體110/110B是否能夠抑制VEGF-C刺激之人類淋巴管內皮細胞(HLEC)增殖之實驗之結果。

圖26A展示經實施以測定抗體110/110B是否能夠抑制VEGF-C刺激之VEGFR2磷酸化之實驗之結果。圖26B提供圖26A之量化結果。

圖27A展示經實施以測定抗體110/110B是否能夠抑制VEGF-C刺激之VEGFR3磷酸化之實驗之結果。圖27B提供圖26A之量化結果。

圖28繪示量測110B/110B抑制腫瘤生長之能力之NCI-H460腫瘤異種移植物分析之結果。

【實施方式】

本發明提供新穎抗血管內皮生長因子受體2 (VEGFR2)抗體。申請者已驚訝發現，與業內已知之其他抗VEGFR2抗體相比，本文所提

供之抗 VEGFR2 抗體結合 VEGFR2 之結構域 5-7。本文所闡述之抗 VEGFR2 抗體不阻斷 VEGF 至 VEGFR2 之結合，但能夠抑制活體外及活體內血管生成。

亦提供免疫偶聯物、編碼本文所闡述之新穎抗 VEGFR2 抗體之核酸及組合物(例如醫藥組合物)。本發明亦提供使用新穎抗 VEGFR2 抗體檢測試樣(例如活體內或離體試樣)中之 VEGFR2 之方法、包括用於治療癌症之該等抗體之組合物及該等抗體用以製造用於治療癌症之藥劑。

定義

如本文中所使用，「治療(treatment或treating)」係獲得有益或期望結果(包含臨床結果)之方式。出於本發明目的，有益或期望臨床結果包含但不限於下列各項中之一或多者：緩和一或多種源自疾病之症狀，減弱疾病程度，穩定疾病(例如預防或延遲疾病之惡化(例如進展))，預防或延遲疾病擴散(例如轉移)，預防或延遲疾病復發，延遲或減緩疾病進展，改善疾病狀態，提供疾病之緩解(部分地或完全)，降低治療疾病所需之一或多種其他藥劑之劑量，延遲疾病進展，增加或改良生活品質，增加增重，及/或延長存活。「治療」亦涵蓋減小癌症之病理學結果(例如腫瘤體積)。本文所提供之方法涵蓋該等治療態樣中之任一者或多者。

術語「復發(recurrence、relapse或relapsed)」係指在臨床評價疾病消失之後癌症或疾病之恢復。遠轉移或局部復發之診斷可視為復發。

術語「難治性」或「抗性」係指對治療並無反應之癌症或疾病。

術語「輔助療法」係指在主要療法(通常係手術)之後給予之治療。用於癌症或疾病之輔助療法可包含免疫療法、化學療法、放射療

法或激素療法。

術語「維持療法」係指經給予以幫助維持先前治療效應之排定再治療。通常給予維持療法以幫助保持癌症處於緩解中或延長對特定療法之反應，不論疾病進展如何。

術語「侵襲性癌症」係指已擴散至組織層以外之癌症(其中癌症已開始進入正常周圍組織)。侵襲性癌症可為或可不為轉移性。

術語「非侵襲性癌症」係指極早期癌症或尚未擴散至源組織以外之癌症。

腫瘤學中之術語「無進展存活期」係指在治療期間及之後癌症不生長之時間長度。無進展存活期包含患者已經歷完全反應或部分反應之時間量以及患者已經歷穩定疾病之時間量。

腫瘤學中之術語「進展性疾病」可係指自治療開始生長超過20%(因質量增加或腫瘤擴散)之腫瘤。

「病症」係受益於抗體治療之任一病狀。舉例而言，哺乳動物患有異常VEGFR2活性或需要預防異常VEGFR2活性。此包含慢性及急性病症或疾病，包含使哺乳動物易患所討論病症之彼等病理學病狀。本文擬治療之病症之非限制性實例包含癌症(例如結腸癌、結腸直腸癌、胃癌、胃食管癌、膀胱癌、肺癌及實體腫瘤)及特徵在於過度血管生成之病理學病狀。受益於本發明所提供抗VEGFR2抗體之治療之實例性癌症及特徵在於過度血管生成之病理學病狀進一步詳細闡述於本文其他處。

本文所用之「腫瘤」係指所有腫瘤性細胞生長及增殖(無論係惡性的抑或係良性的)以及所有癌前期及癌性細胞及組織。

術語「抗體」係以最廣泛意義使用且具體涵蓋(例如)單一單株抗體(包含激動劑、拮抗劑及中和抗體)、具有多表位特異性之抗體組合物、多株抗體、單一鏈抗體及抗體片段(參見下文)，只要其特異性

結合天然多肽及/或展現本發明之生物活性或免疫活性。在某些實施例在，抗體特異性結合至蛋白質，該結合可由本發明之單株抗體(例如本發明之保藏抗體等)抑制。片語「抗體之功能片段或類似物」係具有與針對抗體所提及相同之定性生物活性之化合物。舉例而言，本發明抗體之功能片段或類似物可為可特異性結合VEGFR2者。在一實施例中，該抗體可預防或實質上減低VEGFR2誘導細胞增殖之能力。

「經分離抗體」係經鑑別並自其自然環境組份中分離及/或回收之抗體。其自然環境之污染組份係會干擾抗體之診斷或治療用途之材料，且可包含酶、激素及其他蛋白質性溶質或非蛋白質性溶質。在較佳實施例中，將抗體純化至以下程度：(1)大於95重量%之抗體，如藉由勞裡法(Lowry method)所測定，及最佳地大於99重量%；(2)足以獲得N-末端或內部胺基酸序列之至少15個殘基之程度，藉由使用旋杯式序列分析儀；或(3)均質性，藉由SDS-PAGE在還原或非還原條件下使用考馬斯藍(Coomassie blue)或較佳地銀染色。經分離抗體包含重組細胞內之原位抗體，此乃因該抗體之自然環境之至少一種組份係不存在的。然而，通常經分離抗體可藉由至少一個純化步驟來製備。

基礎4-鏈抗體單元係由兩條相同輕(L)鏈及兩條相同重(H)鏈構成之異四聚體醣蛋白(IgM抗體係由5個基礎異四聚體單元以及額外多肽(稱為J鏈)組成，且由此含有10個抗原結合位點，而經分泌IgA抗體可聚合形成包括2-5個基礎4-鏈單元以及J鏈之多價集合體)。在IgG之情形下，4-鏈單元通常約為150,000道爾頓(dalton)。每一L鏈藉由一個共價二硫鍵連接至H鏈，而兩條H鏈端視H鏈同型藉由一或多個二硫鍵彼此連接。每一H鏈及L鏈亦具有規則地間隔開之鏈內二硫橋。每一H鏈在N-末端處具有可變結構域(V_H)，隨後係三個恆定結構域(C_H) (對於 α 及 γ 鏈中之每一者)及四個C_H結構域(對於 μ 及 ϵ 同型)。每一L鏈在N-末端處具有可變結構域(V_L)，隨後係在另一端之恆定結構域(C_L)。V_L與

V_H 對準且 C_L 與重鏈(C_H1)之第一恆定結構域對準。據信，特定胺基酸殘基可在輕鏈與重鏈可變結構域之間形成界面。 V_H 及 V_L 之配對一起形成單一抗原結合位點。關於不同種類抗體之結構及性質，例如參見 Basic and Clinical Immunology，第8版，Daniel P. Stites, Abba I. Terr 及 Tristram G. Parslow (編輯)，Appleton & Lange, Norwalk, CT, 1994，第71頁及第6章。

基於來自任何脊椎動物物種之恆定結構域之胺基酸序列，可將L鏈指配為兩種完全不同之類型(稱為 κ 及 λ)之一。端視重鏈(C_H)恆定結構域之胺基酸序列，可將免疫球蛋白指配為不同種類或同型。存在五類免疫球蛋白：IgA、IgD、IgE、IgG及IgM，其重鏈分別指配為 α 、 δ 、 γ 、 ϵ 及 μ 。基於 C_H 序列及功能之相對較小差異將 γ 及 α 種類進一步劃分成亞類，舉例而言，人類表現下列亞類：IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及IgA2。

術語「可變」係指抗體之間可變結構域之某些區段之序列差異極大的事實。V結構域調介抗原結合且界定特定抗體對其特定抗原之特異性。然而，可變性會不均勻分佈於可變結構域之110-胺基酸跨度中。而是，V區係由15-30個胺基酸之相對不變之片段(稱為框架區(FR))組成，其由各自長9-12個胺基酸之較短極端可變性區域(稱為「超變區」)分隔。原始重鏈及輕鏈之可變結構域各自包括4個由三個超變區連結之主要採用 β 薄片構形的FR，該等超變區形成連結且在一些情形下形成 β 薄片結構之一部分的環。每條鏈中之超變區藉助FR保持緊密靠近，且與來自另一鏈之超變區一起促進形成抗體之抗原結合位點(參見 Kabat 等人，Sequences of Proteins of Immunological Interest，第5版，Public Health Service，國立衛生研究院(National Institutes of Health)，Bethesda, MD. (1991))。恆定結構域不直接參與抗體與抗原之結合，但呈現多種效應物功能，舉例而言，抗體參與抗

體依賴性細胞細胞毒性(ADCC)。

如本文中所使用，術語「CDR」或「互補決定區」欲指發現於重鏈及輕鏈多肽之可變區內之非鄰接抗原組合位點。該等特定區域已闡述於以下文獻中：Kabat等人，J. Biol. Chem. 252:6609-6616 (1977)；Kabat等人，U.S. Dept. of Health and Human Services, 「Sequences of proteins of immunological interest」 (1991)；Chothia等人，J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)；及MacCallum等人，J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996)，其中定義包含在彼此比較時胺基酸殘基之重疊或子組。然而，在提及抗體或接枝抗體或其變體之CDR時應用任一定義意欲在如本文所定義及使用之術語之範圍內。作為對比，涵蓋如由上文所引用參考文獻各自所定義之CDR之胺基酸殘基陳述於下表1中。

表1：CDR定義

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

¹殘基編號遵循Kabat等人(見上文)之命名法

²殘基編號遵循Chothia等人(見 上文)之命名法

³殘基編號遵循MacCallum等人(見上文)之命名法

本文所用之術語「單株抗體」係指自實質上同源抗體之群體獲得之抗體，亦即，除可少量存在之可能天然突變外，構成該群體之個別抗體皆相同。單株抗體具有高度特異性，其針對單一抗原性位點。此外，與包含針對不同決定子(表位)之不同抗體之多株抗體製劑不

同，每一單株抗體針對抗原上之單一決定子。除特異性外，單株抗體之優勢亦在於其可不受其他抗體污染地合成。修飾詞「單株」非解釋為需要藉由任一特定方法產生抗體。舉例而言，可用於本發明中之單株抗體可藉由首次由Kohler等人，*Nature*. 256:495 (1975)闡述之雜交瘤方法製得，或可使用重組體DNA方法在細菌、真核動物或植物細胞中製得(例如參見美國專利第4,816,567號)。舉例而言，單株抗體亦可使用Clackson等人(*Nature*, 352:624-628 (1991))、Marks等人(*J. Mol. Biol.*, 222:581-597(1991))及下文實例中所闡述之技術自噬菌體抗體文庫分離出來。

本文之單株抗體包含「嵌合」抗體，其中重鏈及/或輕鏈之一部分與源自特定物種或屬特定抗體種類或亞類之抗體的相應序列一致或同源，而該(等)鏈之其餘部分與源自另一物種或屬另一抗體種類或亞類之抗體的相應序列一致或同源；以及該等抗體之片段，只要其展現本發明之生物活性(參見美國專利第4,816,567號；及Morrison等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:6851-6855 (1984))。本文之所關注嵌合抗體包含含有源自非人類靈長類動物(例如舊大陸猴(Old World Monkey)、人猿等)之可變結構域抗原結合序列及人類恆定區序列之「靈長類化」抗體。

「完整」抗體係包括抗原結合位點以及C_L及至少重鏈恆定結構域C_{H1}、C_{H2}及C_{H3}者。恆定結構域可為天然序列恆定結構域(例如人類天然序列恆定結構域)或其胺基酸序列變體。較佳地，完整抗體具有一或多種效應物功能。

「抗體片段」包括完整抗體之一部分，較佳係完整抗體之抗原結合區或可變區。抗體片段之實例包含Fab、Fab'、F(ab')₂及Fv片段；雙價抗體；線性抗體(參見美國專利第5,641,870號實例2；Zapata等人，*Protein Eng.* 8(10): 1057-1062)；單鏈抗體分子；及自抗體片

段形成之多特異性抗體。

表達「線性抗體」通常係指 Zapata 等人，Protein Eng., 8(10):1057-1062 (1995)中所闡述之抗體。簡言之，該等抗體包括一對串聯Fd區段(VH-CH1-VH-CH1)，其與互補輕鏈多肽一起形成一對抗原結合區域。線性抗體可為雙特異性或單特異性。

抗體之木瓜蛋白酶消化產生兩個相同抗原結合片段(稱為「Fab」片段)及殘餘「Fc」片段(反映易於結晶之能力之名稱)。Fab片段係由整個L鏈以及H鏈之可變區結構域(V_H)及一條重鏈之第一恆定結構域(C_{H1})組成。每一Fab片段關於抗原結合係單價，亦即其具有單一抗原結合位點。抗體之胃蛋白酶處理得到單一大F(ab')₂片段，該片段大致對應於具有二價抗原結合活性之兩個二硫化物連接之Fab片段且仍1能夠使抗原交聯。Fab'片段與Fab片段之不同之處在於在C_{H1}結構域之羧基末端具有幾個額外殘基，包含一或多個來自抗體鉸鏈區之半胱胺酸。在本文中，Fab'-SH係恆定結構域中之半胱胺酸殘基具有游離硫醇基之Fab'之名稱。F(ab')₂抗體片段最初係作為在其間具有鉸鏈半胱胺酸之Fab'片段對產生。亦已知抗體片段之其他化學偶合。

Fc片段包括兩個由二硫化物保持在一起之H鏈之羧基-末端部分。藉由Fc區中之序列來測定抗體之效應物功能，該區亦係由發現於某些類型細胞上之Fc受體(FcR)識別之一部分。

「變體Fc區」包括與天然序列Fc區因如本文所定義之至少一個「胺基酸修飾」而有所不同之胺基酸序列。較佳地，變體Fc區與天然序列Fc區或親代多肽之Fc區相比具有至少一個胺基酸取代，例如在天然序列Fc區或親代多肽之Fc區中具有約一個至約十個胺基酸取代及較佳地約一個至約五個胺基酸取代。在一實施例中，本文之變體Fc區與天然序列Fc區擁有至少約80%同源性、至少約85%同源性、至少約90%同源性、至少約95%同源性或至少約99%同源性。根據另一實施

例，本文之變體Fc區與親代多肽之Fc區擁有至少約80%同源性、至少約85%同源性、至少約90%同源性、至少約95%同源性或至少約99%同源性。

術語「包括Fc區之多肽」係指包括Fc區之多肽，例如抗體或免疫黏附素(參見本文其他處之定義)。可(例如)在純化多肽期間或藉由重組改造編碼多肽之核酸來去除Fc區之C-末端離胺酸(根據EU編號系統之殘基447)。因此，包括具有本發明Fc區之多肽(包含抗體)之組合物可包括去除所有K447殘基之多肽群體、並未去除K447殘基之多肽群體或具有含有及不含K447殘基之多肽之混合物之多肽群體。

抗體「效應物功能」係指彼等可歸屬於抗體之Fc區(天然序列Fc區或胺基酸序列變體Fc區)之生物活性且隨抗體同型有所變化。抗體效應物功能之實例包含：C1q結合及補體依賴性細胞毒性；Fc受體結合；抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)；吞噬作用；細胞表面受體之下調；及B細胞活化。「天然序列Fc區」包括與自然界中所發現Fc區之胺基酸序列相同之胺基酸序列。Fc序列之實例闡述於(例如)但不限於Kabat等人，*Sequences of Immunological Interest*.第5版。Public Health Service，國立衛生研究院，Bethesda, Md. (1991))。

「Fv」係含有完全抗原識別及結合位點之最小抗體片段。此片段係由一個重鏈可變區結構域與一個輕鏈可變區結構域呈緊密非共價締合形式之二聚體組成。該兩個結構域之摺疊會產生有助於胺基酸殘基之抗原結合且賦予抗體抗原結合特異性之6個超變環(各來自H鏈及L鏈之3個環)。然而，即使單一可變結構域(或Fv之一半，其僅包括三個對抗原具有特異性之CDR)亦具有識別並結合抗原之能力，但其親和力低於完整結合位點。

「單鏈Fv」(亦縮寫為「sFv」或「scFv」)係包括連結成單一多肽鏈之V_H及V_L抗體結構域之抗體片段。較佳地，sFv多肽進一步包括

V_H 結構域與 V_L 結構域之間之多肽連接體，其使得sFv能夠形成用於抗原結合之期望結構。關於sFv之綜述，參見Pluckthun，*The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*，第113卷，Rosenburg及Moore編輯，Springer-Verlag, New York，第269-315頁(1994)；Borrebaeck 1995 (見下文)。

術語「雙價抗體」係指藉由以下方式製得之小抗體片段：使用 V_H 及 V_L 結構域之間之短連接體(約5-10個殘基)來構築sFv片段(參見上段)以便達成V結構域之鏈間(而非鏈內)配對，從而產生二價片段(亦即具有兩個抗原結合位點之片段)。雙特異性雙價抗體係兩個「交叉」sFv片段之異二聚體，其中兩個抗體之 V_H 及 V_L 結構域存在於不同多肽鏈上。雙價抗體更全面地闡述於(例如) EP 404,097；WO 93/11161；及Hollinger等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:6444-6448 (1993)中。

「人類化」形式之非人類(例如齧齒類動物)抗體係含有源自非人類抗體之最小序列之嵌合抗體。在大多數情況下，人類化抗體係如下人類免疫球蛋白(受體抗體)：其中來自受體超變區之殘基由來自非人類物種(例如小鼠、大鼠、兔或非人類靈長類動物)超變區(供體抗體)之具有期望抗體特異性、親和力及能力之殘基代替。在一些情況下，人類免疫球蛋白之框架區(FR)殘基由相應之非人類殘基代替。此外，人類化抗體可包括受體抗體或供體抗體中不存在之殘基。實施該等修飾以進一步改良抗體特性。一般而言，人類化抗體包括實質上全部之至少一個且通常兩個可變結構域，其中全部或實質上全部超變環對應於非人類免疫球蛋白之超變環，且全部或實質上全部FR為人類免疫球蛋白序列之FR區。人類化抗體視情況亦包括免疫球蛋白恆定區(Fc)(通常為人類免疫球蛋白恆定區)之至少一部分。其他細節參見Jones等人，*Nature* 321:522-525 (1986)；Riechmann等人，*Nature* 332:323-329

(1988)；及Presta， Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596 (1992)。

關於本文所鑑別多肽及抗體序列之「胺基酸序列一致性百分比(%)」定義如下：在比對各序列且考慮將任何保守取代視為序列一致性之一部分之後，候選序列中與所比較多肽中之胺基酸殘基一致之胺基酸殘基之百分比。出於確定胺基酸序列一致性百分比之目的，比對可以熟習此項技術者所熟知之各種方式來達成，例如使用可公開獲得之電腦軟體，例如BLAST、BLAST-2、ALIGN或Megalign(DNASTAR)軟體。熟習此項技術者可測定用於量測比對之適當參數，包含在所比較序列之全長範圍內達成最大比對所需之任何算法。然而，出於本文目的，使用序列對比電腦程式ALIGN-2來產生胺基酸序列一致性%之值。ALIGN-2序列對比電腦程式係由Genentech公司設計，且源碼已與使用者文件一起於美國版權局，Washington D.C., 20559中存檔，其中其以美國版權登記號TXU510087登記。ALIGN-2程式係經由Genentech公司(South San Francisco, California.)以公開方式獲得。ALIGN-2程式應經編譯用於UNIX操作系統(較佳係數位UNIX V4.0D)中。所有序列對比參數皆係由ALIGN-2程式設定且不改變。

術語「Fc受體」或「FcR」用於闡述與抗體之Fc區結合之受體。在一實施例中，本發明之FcR係結合IgG抗體者(γ 受體)且包含Fc γ RI、Fc γ RII及Fc γ RIII亞類之受體，包含該等受體之對偶基因變體及交替剪接形式。Fc γ RII受體包含Fc γ RIIA (「活化受體」)及Fc γ RIIB (「抑制受體」)，二者具有主要在胞質結構域上有所不同之類似胺基酸序列，。活化受體Fc γ RIIA在其胞質結構域中含有基於免疫受體酪胺酸之活化基序(ITAM)。抑制受體Fc γ RIIB在其細胞質結構域中含有基於免疫受體酪胺酸之抑制基序(ITIM) (參見綜述M.，Daëron, *Annu. Rev. Immunol.* 15:203-234 (1997))。該術語包含異型，例如Fc γ RIIIA異型：Fc γ RIIIA-Phe158、Fc γ RIIIA-Val158、Fc γ RIIA-R131及/或Fc γ RIIA-

H131。FcR綜述於Ravetch及Kinet, *Annu. Rev. Immunol* 9:457-92 (1991); Capel等人, *Immunomethods* 4:25-34 (1994); 及de Haas等人, *J. Lab. Clin. Med.* 126:330-41 (1995)。本文之術語「FcR」涵蓋其他FcR, 包含欲在將來鑑別者。該術語亦包含新生兒受體(FcRn), 該受體負責將母體IgG轉移至胎兒體內(Guyer等人, *J. Immunol.* 117:587 (1976)及Kim等人, *J. Immunol.* 24:249 (1994))。

術語「FcRn」係指新生Fc受體(FcRn)。FcRn在結構上類似於主要組織相容性複合體(MHC)且係由以非共價方式結合 β 2-微球蛋白之 α -鏈組成。新生Fc受體FcRn之多種功能綜述於Ghetie及Ward (2000) *Annu. Rev. Immunol.* 18, 739-766中。FcRn在免疫球蛋白IgG自母親至幼崽之被動遞送及血清IgG含量之調控中發揮一定作用。FcRn可用作補救受體, 從而在細胞內及細胞中以完整形式結合及傳輸胞飲IgG, 且將其自默認降解路徑恢復。

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

「鉸鏈區」通常定義為自人類IgG1之Glu216延伸至Pro230 (Burton, *Molec.Immunol.*22:161-206 (1985))。可藉由將第一個及最後一個半胱胺酸殘基置於相同位置中以形成重鏈間S-S來比對其他IgG同型之鉸鏈區與IgG1序列。

Fc區之「下鉸鏈區」通常定義為緊鄰鉸鏈區之C-末端之殘基片段, 亦即Fc區之殘基233至239。在先前報導中, FcR結合通常歸因於IgG Fc區之下鉸鏈區中之胺基酸殘基。

人類IgG Fc區之「CH2結構域」(亦稱為「H2」結構域之「C2」)通常自約胺基酸231延伸至約胺基酸340。CH2結構域之獨特之處在於其並不與另一結構域緊密配對。而是, 兩個N-連接具支鏈碳水化合物鏈插入於完整天然IgG分子之兩個CH2結構域之間。據推

測，碳水化合物可替代結構域-結構域配對且幫助穩定CH2結構域。
Burton, *Molec Immunol.* 22:161-206 (1985)。

「CH3結構域」(亦稱為「C2」或「H3」結構域)包括Fc區中CH2結構域之C-末端之殘基片段(亦即自約胺基酸殘基341至抗體序列之C-末端(通常在IgG之胺基酸殘基446或447處))

「功能Fc區」擁有天然序列Fc區之「效應物功能」。實例性「效應物功能」包含C1q結合；補體依賴性細胞毒性；Fc受體結合；抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)；吞噬作用；細胞表面受體之下調(例如B細胞受體；BCR)等。該等效應物功能通常需要Fc區與結合結構域(例如抗體可變結構域)進行組合且可使用(例如)如本文所揭示之各種分析予以評價。

「C1q」係包含用於免疫球蛋白之Fc區之結合位點之多肽。C1q與兩個絲胺酸蛋白酶(C1r及C1)一起形成複合C1，其係補體依賴性細胞毒性(CDC)路徑之第一組份。人類C1q可購自(例如) Quidel, San Diego, CA。

術語「結合結構域」係指多肽中結合另一分子之區域。在FcR之情形下，結合結構域可包括其多肽鏈(例如其 α 鏈)中負責結合Fc區之一部分。一個有用結合結構域係FcR α 鏈之細胞外結構域。

具有擁有「改變」之FcR結合親和力或ADCC活性之變體IgG Fc之抗體係與親代多肽或包括天然序列Fc區之多肽具有增強或減弱之FcR結合活性(例如Fc γ R或FcRn)及/或ADCC活性者。對FcR「展現增加之結合」之變體Fc結合至少一種親和力高於(例如較低表觀Kd或IC50值)親代多肽或天然序列IgG Fc之FcR。根據一些實施例，與親代多肽相比之結合改良係結合改良約3倍、較佳地約5、10、25、50、60、100、150、200、最多500倍或約25%至1000%。對FcR「展現降低之結合」之多肽變體結合至少一種親和力低於(例如較高表觀Kd或

較高IC₅₀值)親代多肽之FcR。與親代多肽相比之結合降低可為結合降低約40%或更高。

「抗體依賴性細胞介導之細胞毒性」或「ADCC」係指以下細胞毒性形式：其中與存在於某些細胞毒性細胞(例如天然殺傷(NK)細胞、嗜中性球及巨噬球)上之Fc受體(FcR)結合之分泌Ig使該等細胞毒性效應細胞能夠特異性結合帶抗原靶細胞且隨後利用細胞毒素殺滅該靶細胞。抗體「武裝」該等細胞毒性細胞且為該殺滅過程絕對所需。用於介導ADCC之原代細胞(NK細胞)僅表現FcγRIII，而單核球表現FcγRI、FcγRII及FcγRIII。FcR於造血細胞上之表現匯總於Ravetch及Kinet, *Annu. Rev. Immunol* 9:457-92 (1991)之第464頁表3中。為評價所關注分子之ADCC活性，可實施活體外ADCC分析，例如闡述於美國專利第5,500,362號或第5,821,337號或下文實例中者。可用於該等分析之效應細胞包含末梢血單核細胞(PBMC)及天然殺傷(NK)細胞。或者或另外，可在活體內(例如在諸如揭示於Clynes等人, *PNAS (USA)* 95:652-656 (1998)中之動物模型等動物模型中)評價所關注分子之ADCC活性。

在分析中具有變體Fc區之多肽及具有野生型Fc區之多肽(或親代多肽)之量基本上相同時，包括變體Fc區之多肽(其較具有野生型IgG Fc之多肽或親代多肽「展現增加之ADCC」或在人類效應物細胞存在下更有效地介導抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC))係在活體外或在活體內實質上更有效地介導ADCC者。通常，使用業內已知之任一活體外ADCC分析(例如用於測定ADCC活性之分析或方法，例如在動物模型中等等)鑑別該等變體。在一實施例中，較佳變體介導ADCC之有效性高於野生型Fc (或親代多肽)約5倍至約100倍(例如約25至約50倍)。

「補體依賴性細胞毒性」或「CDC」係指在補體存在下靶細胞之

溶解。經典補體途徑之活化係藉由補體系統之第一補體(C1q)與抗體(適當亞類)之結合來引發，該等抗體結合其同族抗原。為評價補體活化，可實施CDC分析，例如如Gazzano-Santoro等人，*J. Immunol. Methods* 202:163 (1996)中所闡述。具有改變之Fc區胺基酸序列及增加或降低之C1q結合能力之多肽變體闡述於美國專利第6,194,551B1號及WO99/51642中。彼等專利公開案之內容以引用方式具體併入本文中。亦參見Idusogie等人，*J. Immunol.* 164:4178-4184 (2000)。

如本文所揭示抗VEGFR2抗體(或其片段)或組合物之「有效量」係足以實施具體陳述之目的之量。可憑經驗及藉由與所陳述目的相關之已知方法來測定「有效量」。

術語「治療有效量」係指如本文所揭示抗VEGFR2抗體(或其片段)或組合物有效「治療」哺乳動物(亦稱為患者)之疾病或病症之量。在癌症情形下，治療有效量之如本文所揭示之抗VEGFR2抗體(或其片段)或組合物可減少癌細胞數；減少腫瘤之大小或重量；抑制(亦即在一定程度上減慢且較佳終止)癌細胞浸潤至周邊器官中；抑制(亦即在一定程度上減慢且較佳終止)腫瘤轉移；在一定程度上抑制腫瘤生長；及/或在一定程度上減輕與癌症有關之一或多種症狀。就如本文所揭示之抗VEGFR2抗體(或其片段)或組合物可預防生長及/或殺滅現有癌症細胞而言，其可為細胞生長抑制性及/或細胞毒性。在一實施例中，治療有效量係生長抑制量。在另一實施例中，治療有效量係延長患者之存活之量。在另一實施例中，治療有效量係改良患者之無進展存活之量。

本發明之如本文所揭示抗VEGFR2抗體(或其片段)或組合物之「生長抑制量」係能夠在活體外或活體內抑制細胞、尤其腫瘤(例如癌症)細胞之生長的量。可憑經驗及藉由已知方法或藉由本文所提供之實例來測定本發明之多肽、抗體、拮抗劑或組合物用於抑制贅瘤性

細胞生長目的之「生長抑制量」。

本發明之抗VEGFR2抗體(或其片段)或組合物之「細胞毒性量」係能夠在活體外或活體內破壞細胞、尤其腫瘤(例如)癌症細胞之量。可憑經驗及藉由業內已知方法來測定本發明之抗VEGFR2抗體(或其片段)或組合物用於抑制贅瘤性細胞生長目的之「細胞毒性量」。

本發明之抗VEGFR2抗體(或其片段)或組合物之「生長抑制量」係能夠在活體外或活體內抑制細胞、尤其腫瘤(例如癌症)細胞之生長的量。可憑經驗及藉由已知方法或藉由本文所提供之實例來測定本發明之抗VEGFR2抗體(或其片段)或組合物用於抑制贅瘤性細胞生長目的之「生長抑制量」。

如本文中所使用，「醫藥上可接受」或「藥理學相容」意指材料在生物學上或以其他方面不是不受歡迎的，舉例而言，該材料可納入投與患者之醫藥組合物中而不會引起任何顯著不期望的生物效應或不會以有害方式與含有其之組合物中之任一其他組份相互作用。醫藥上可接受之載劑或賦形劑較佳地符合毒物學及製造測試及/或包含於由美國食品與藥物管理局(U.S. Food and Drug administration)制定之惰性成分導則(Inactive Ingredient Guide)之所需標準。

術語「檢測」意欲包含測定物質之存在或不存在或量化物質(例如VEGFR2)之量。該術語由此係指使用本發明之材料、組合物及方法進行定性及定量測定。一般而言，用於檢測之特定技術對於本發明之實踐並不重要。

舉例而言，本發明之「檢測」可包含觀察以下各項：VEGFR2基因產物、mRNA分子或VEGFR2多肽之存在或不存在；VEGFR2多肽含量或結合靶之量之變化；VEGFR2多肽之生物功能/活性之變化。在一些實施例中，「檢測」可包含檢測野生型VEGFR2含量(例如mRNA或多肽含量)。檢測可包含在與對照相比時量化介於10%與90%間之任

一值或介於30%與60%間之任一值或超過100%之變化(增加或降低)。檢測可包含量化介於2倍至10倍之間之任一值(包含此二者)或更高(例如100倍)之變化。

在用於本文中時，詞語「標記」係指直接或間接偶聯至抗體之可檢測化合物或組合物。標記可係自身可檢測(例如放射性同位素標記或螢光標記)，或在酶標記情形下，標記可催化受質化合物或組合物發生可檢測之化學變化。

本文所提及之「約」一值或參數係指熟習此技術領域者易於已知之各別值之常用誤差範圍。本文所提及之「約」一值或參數包含(且闡述)涉及該值或參數本身之態樣。舉例而言，提及「約X」之闡述包含闡述「X」。

應理解，本文所闡述之本發明態樣及實施例包含「包括」態樣及實施例、「由其組成」及「基本上由其組成」。

本文所引用之所有參考文獻(包含專利申請案及公開案)之全部內容皆以引用方式併入本文中。

抗血管內皮生長因子受體2 (VEGFR2) 抗體

本發明係基於結合血管內皮生長因子受體2 (VEGFR2)之新穎抗體之鑑別。抗VEGFR2抗體可用於各種治療及診斷方法中。舉例而言，抗VEGFR2抗體可單獨或與其他藥劑組合用於治療特徵在於異常VEGFR2表現或異常VEGFR2活性之疾病，該疾病包含(例如)結腸癌、結腸直腸癌、胃癌、胃食管癌、膀胱癌、肺癌、實體腫瘤及特徵在於過度血管生成之病理學病狀(例如闡述於本文其他處者)。亦可使用本文所提供之抗體藉由以下方式來檢測患者或患者試樣中之VEGFR2蛋白：將抗VEGFR2抗體投與患者且檢測來自患者之試樣中結合VEGFR2蛋白之抗VEGFR2抗體(例如活體內或離體)，或使抗VEGFR2抗體與來自患者之試樣接觸，且定性或定量檢測結合VEGFR2蛋白之

抗VEGFR2抗體。

血管內皮生長因子受體2或「VEGFR2」(亦稱為(例如) KDR (「激酶插入結構域受體」)、FLK1 (「胎兒肝激酶1」)及CD309) VEGFR受體家族之成員，其係三種密切相關受體酪胺酸激酶之子家族。VEGF受體通常係III類受體酪胺酸激酶，其特徵在於在其胺基末端細胞外受體配體結合結構域中具有若干(通常5或7)個免疫球蛋白樣環(Kaipainen等人，*J. Exp. Med.*, 178:2077-88 (1993))。VEGFR2促進血管生成及淋巴血管生成信號傳導，其係內皮細胞上之主要VEGF受體。藉由結合VEGFA來活化VEGFR2，藉此VEGFR2發生二聚合及酪胺酸自身磷酸化。自磷酸化引起(例如)含有SH2結構域之信號轉導分子(例如PLC- γ 、VRAP (VEGF受體相關蛋白)及Sck)之下游直接活化以及Src及PI3K (磷脂酰肌醇3-激酶)之間接活化。通常認為，VEGFR2係產生內皮細胞增殖、遷移、分化、管形成、血管滲透性增加及血管完整性維持之主要VEGF信號轉導子。異常VEGFR2表現或VEGFR2活性與許多癌症(例如結腸癌、結腸直腸癌、胃癌、胃食管癌、膀胱癌、肺癌及實體腫瘤)及特徵在於過度血管生成之病理學病狀(例如闡述於本文其他處者)有關。

抗VEGFR2抗體係以足夠親和力及特異性結合VEGFR2之抗體。較佳地，本文所提供之抗VEGFR2抗體(或其抗原結合片段)可用作靶向且干擾涉及VEGFR2活性之疾病或病狀之治療劑。在某些實施例中，本文所提供之抗VEGFR2抗體不結合至VEGF受體家族之其他成員(例如VEGFR1/FLT1或VEGFR3/FLT4/PCL/Chy)。在某些實施例中，本文所提供之抗VEGFR2抗體亦結合VEGFR3/FLT4/PCL/Chy。在某些實施例中，抗VEGFR2抗體係重組人類化抗VEGFR2單株抗體。根據一實施例，抗VEGFR2抗體包括本文所揭示任一抗體之CDR、可變重鏈區及/或可變輕區。

在某些實施例中，本文所提供之抗VEGFR2抗體(或其抗原結合片段)不以競爭性方式抑制第二抗VEGFR2抗體至人類VEGFR2之結合。在某些實施例中，第二抗VEGFR2抗體包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列RASQSVSSYLA (SEQ ID NO: 73)之CDR-L1；包括胺基酸序列DSSNRAT (SEQ ID NO: 52)之CDR-L2；及包括胺基酸序列LQHNTFPPT (SEQ ID NO: 61)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列SYSMN (SEQ ID NO: 28)之CDR-H1；包括胺基酸序列SISSSSSYIYYADSVKG (SEQ ID NO: 35)之CDR-H2；及包括胺基酸序列VTDAFDI (SEQ ID NO: 41)之CDR-H3。在某些實施例中，第二抗VEGFR2抗體係US2009/0306348中所闡述之1121B，該案件之全部內容之內容以引用方式併入本文中。在某些實施例中，第二抗VEGFR2抗體包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列RASQGIDNWLG (SEQ ID NO: 74)之CDR-L1；包括胺基酸序列DASNLDI (SEQ ID NO: 53)之CDR-L2；及包括胺基酸序列QQAFAFPPT (SEQ ID NO: 62)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列SYSMN (SEQ ID NO: 28)之CDR-H1；包括胺基酸序列SISSSSSYIYYADSVKG (SEQ ID NO: 35)之CDR-H2；及包括胺基酸序列VTDAFDI (SEQ ID NO: 41)之CDR-H3。在某些實施例中，第二抗VEGFR2抗體US 7,498,414中所闡述之1121N，該案件之全部內容之內容以引用方式併入本文中。

在某些實施例中，本文所提供之抗VEGFR2抗體(或其抗原結合片段)不結合由第二抗VEGFR2抗體結合之VEGFR2之結構域。在某些實施例中，第二抗VEGFR2抗體包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列RASQSVSSYLA (SEQ ID NO: 73)之CDR-L1；包括胺基酸序列DSSNRAT (SEQ ID NO: 52)之CDR-L2；及包括胺基酸序列LQHNTFPPT (SEQ ID NO: 61)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，

其包括包括胺基酸序列SYSMN (SEQ ID NO: 28)之CDR-H1；包括胺基酸序列SISSSSSYIYYADSVKG (SEQ ID NO: 35)之CDR-H2；及包括胺基酸序列VTDAFDI (SEQ ID NO: 41)之CDR-H3。在某些實施例中，第二抗VEGFR2抗體包括包括胺基酸序列SEQ ID NO: 104之輕鏈可變結構域及包括胺基酸序列SEQ ID NO: 106之重鏈可變結構域。在某些實施例中，第二抗VEGFR2抗體係US2009/0306348中所闡述之1121B。在某些實施例中，第二抗VEGFR2抗體包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列RASQGIDNWL (SEQ ID NO: 74)之CDR-L1；包括胺基酸序列DASNLD (SEQ ID NO: 53)之CDR-L2；及包括胺基酸序列QQA (SEQ ID NO: 62)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列SYSMN (SEQ ID NO: 28)之CDR-H1；包括胺基酸序列SISSSSSYIYYADSVKG (SEQ ID NO: 35)之CDR-H2；及包括胺基酸序列VTDAFDI (SEQ ID NO: 41)之CDR-H3。在某些實施例中，第二抗VEGFR2抗體包括包括胺基酸序列SEQ ID NO: 105之輕鏈可變結構域及包括胺基酸序列SEQ ID NO: 106之重鏈可變結構域。在某些實施例中，第二抗VEGFR2抗體係US 7,498,414中所闡述之1121N。

SEQ ID NO: 104-106之胺基酸序列提供於下文中：

EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP
RLLIYDSSNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFATYYCLQHNTF
PPTFGGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE
AKVQWKVDNALQSGN (SEQ ID NO: 104)

DIQMTQSPSSVSASIGDRVTITCRASQGIDNWLGWYQQKPGKAP
KLLIYDASNLD (SEQ ID NO: 53)GVPSRFS (SEQ ID NO: 62)SGSGTYFTLTIS (SEQ ID NO: 74)SLQAEDFAVYFCQQA
K (SEQ ID NO: 62)AFPTFGGGTKVDIKGTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY
PREAKVQWKVDNALQSGN (SEQ ID NO: 105)

EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGK
GLEWVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDT
AVYYCARVTDAFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT
AALGCLVKDYFPEPVT (SEQ ID NO: 106)

在某些實施例中，本文所提供之抗VEGFR2抗體不阻斷VEGFR2至VEGF之結合。

在某些實施例中，本文所提供之抗VEGFR2抗體結合至VEGFR2之結構域5-7。

在某些實施例中，本文所提供之抗VEGFR2抗體結合至全HUVEC細胞，如經由如下文實例中所闡述之流式細胞術所測定。

在某些實施例中，本文所提供之抗VEGFR2抗體抑制人類臍靜脈內皮細胞(HUVEC)管形成分析(例如下文實例中所闡述之HUVEC管形成分析)中之管形成。在某些實施例中，本文所提供之抗VEGFR2抗體抑制HUVEC遷移分析(例如下文實例中所闡述之HUVEC遷移分析)中之HUVEC遷移。在某些實施例中，本文所提供之抗VEGFR2抗體不抑制HUVEC遷移分析(例如下文實例中所闡述之HUVEC遷移分析)中之HUVEC遷移。在某些實施例中，本文所提供之抗VEGFR2抗體抑制HUVEC存活分析(例如下文實例中所闡述之HUVEC存活分析)中之HUVEC存活。在某些實施例中，本文所提供之抗VEGFR2抗體抑制HUVEC增殖分析(例如下文實例中所闡述之HUVEC增殖分析)中之HUVEC增殖。

在某些實施例中，本文所提供之抗VEGFR2抗體不抑制活體外分析(例如下文實例中所闡述之HUVEC發芽分析)中之血管生成。在某些實施例中，本文所提供之抗VEGFR2抗體抑制活體內分析(例如下文實例中所闡述之HUVEC基質膠塞分析)中之血管生成。在某些實施例中，本文所提供之抗VEGFR2抗體不抑制活體外分析(例如下文實

例中所闡述之HUVEC發芽分析)中之血管生成，但抑制活體內分析(例如如下文實例中所闡述之HUVEC基質膠塞分析)中之血管生成。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體(或其抗原結合片段)包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列RASQNIASYLN (SEQ ID NO: 76) 或 RASQSVS-S/N-S/N-YL-G/A (SEQ ID NO: 83) 或 TRSRGSIASSYVQ (SEQ ID NO: 80)或RSSQSL-L/V/Y-H/Y-G/S/R-D/N-G-N/K/Y-N/T-Y/F-LD (SEQ ID NO: 84)之CDR-L1；包括胺基酸序列 L/A/G/K/E-G/A/V/N/S-S/D-N/S/Q/K-R/L-A/K/D/P-S/T (SEQ ID NO: 60) 之 CDR-L2 ； 及 包 括 胺 基 酸 序 列 M/Q-Q/S-A/S/R/G/Y-L/Y/S/A/D/G/T-Q/S/N/H/F-T/I/W/S-P/T-Y/L/P/V/G/I-T/V (SEQ ID NO: 72)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列T/S-Y-Y/G/A/S-M/I-H/N/S (SEQ ID NO: 34)之CDR-H1；包括胺基酸序列 I/V/G/S-I-N/S/I-P/Y/S/G-S/D/I-G/F/S-G/S-S/N/T/Y/A-T/K/A/I-S/Y/N/H-YA-Q/D-K/S-F/V-K/Q-G (SEQ ID NO: 40)之CDR-H2；及包括胺基酸序列GLWFGEGY (SEQ ID NO: 49)或ESYGGQFDY (SEQ ID NO: 43)或DLVVPAATLDY (SEQ ID NO: 42)或D/G-F/I-Y/I-E/V-A/G-G/P-G/T-W/D-Y/A-FD-L/I (SEQ ID NO: 51)或RDGSLGVGYYYMDF (SEQ ID NO: 50) 或 VGATTSLYYYYGMDV (SEQ ID NO: 47) 或 DGFGGLAVAGPYWYFDL(SEQ ID NO: 44) 或 PTRSRDFWSGLGYYYMMDV (SEQ ID NO: 45)之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體(或其抗原結合片段)包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括選自由組成之群之胺基酸序列SEQ ID NO: 75-82之CDR-L1；包括選自由組成之群之胺基酸序列SEQ ID NO: 54-59之CDR-L2；及包括選自由組成之群之胺基酸序列SEQ ID NO: 63-71之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括選自由組成之群之胺基酸序列之CDR-H1；包括選自由

SEQ ID NO: 35-39及125組成之群之胺基酸序列之CDR-H2；及包括選自由SEQ ID NO: 42-50組成之群之胺基酸序列之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體(或其抗原結合片段)包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列RSSQSLLHGNGNNYLD (SEQ ID NO: 75)之CDR-L1；包括胺基酸序列LGSNRAS (SEQ ID NO: 54)之CDR-L2；及包括胺基酸序列MQALQTPYT (SEQ ID NO: 63)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列TYYM (SEQ ID NO: 29)之CDR-H1；包括胺基酸序列IINPSGGSTSYAQKFQG (SEQ ID NO: 36)之CDR-H2；及包括胺基酸序列DLVVPAATLDY (SEQ ID NO: 42)之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體(或其抗原結合片段)包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列RASQNIASYLN (SEQ ID NO: 76)之CDR-L1；包括胺基酸序列AASSLKS (SEQ ID NO: 55)之CDR-L2；及包括胺基酸序列QQSYSIPYT (SEQ ID NO: 64)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列SYGMH (SEQ ID NO: 30)之CDR-H1；包括胺基酸序列VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO: 37)之CDR-H2；及包括胺基酸序列ESYGGQFDY (SEQ ID NO: 43)之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體(或其抗原結合片段)包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列RASQSVSNNYLG (SEQ ID NO: 77)之CDR-L1；包括胺基酸序列GASSRAT (SEQ ID NO: 56)之CDR-L2；及包括胺基酸序列QQRSNWPLT (SEQ ID NO: 65)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列SYAMH (SEQ ID NO: 31)之CDR-H1；包括胺基酸序列VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO: 37)之CDR-H2；及包括胺基酸序列DGFGGLAVAGPYWYFDL (SEQ ID NO: 44)之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體(或其抗原結合片段)包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列RSSQSLVYSDGKTYLD (SEQ ID NO: 78)之CDR-L1；包括胺基酸序列KVSNRDS (SEQ ID NO: 57)之CDR-L2；及包括胺基酸序列MQGAHWPT (SEQ ID NO: 66)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列SYAIS (SEQ ID NO: 85)之CDR-H1；包括胺基酸序列GIPIFGTANYAQKFQG (SEQ ID NO: 38)之CDR-H2；及包括胺基酸序列PTRSRDFWSGLGYYYMDV (SEQ ID NO: 45)之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體(或其抗原結合片段)包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO: 79)之CDR-L1；包括胺基酸序列GASSRAT (SEQ ID NO: 56)之CDR-L2；及包括胺基酸序列QQRSNWPPT (SEQ ID NO: 67)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列SYGMH (SEQ ID NO: 30)之CDR-H1；包括胺基酸序列VISYDGSNKHYADSVKG (SEQ ID NO: 125)之CDR-H2；及包括胺基酸序列DFYEAGGWYFDL (SEQ ID NO: 46)之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體(或其抗原結合片段)包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列TRSRGSIASSYVQ (SEQ ID NO: 80)之CDR-L1；包括胺基酸序列ENDQRPS (SEQ ID NO: 58)之CDR-L2；及包括胺基酸序列QSYDFSTVV (SEQ ID NO: 68)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列SYAIS (SEQ ID NO: 85)之CDR-H1；包括胺基酸序列GIPIFGTANYAQKFQG (SEQ ID NO: 38)之CDR-H2；及包括胺基酸序列VGATTSLYYYYGMDV (SEQ ID NO: 47)之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體(或其抗原結合片段)包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列RASQSVSSSYLA (SEQ

ID NO: 79)之CDR-L1；包括胺基酸序列GASSRAT (SEQ ID NO: 56)之CDR-L2；及包括胺基酸序列QQYGSSPGT (SEQ ID NO: 69)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列SYSMN (SEQ ID NO: 28)之CDR-H1；包括胺基酸序列SISSSSSYIYYADSVKG (SEQ ID NO: 35)之CDR-H2；及包括胺基酸序列GIIVGPTDAFDI (SEQ ID NO: 48)之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體(或其抗原結合片段)包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列RSSQSLYYRDGYTFLD (SEQ ID NO: 81)之CDR-L1；包括胺基酸序列LSSKRDS (SEQ ID NO: 59)之CDR-L2；及包括胺基酸序列MQGTHWPYT (SEQ ID NO: 70)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列TYAMS (SEQ ID NO: 33)之CDR-H1；包括胺基酸序列GISGSGGATHYADSVKG (SEQ ID NO: 39)之CDR-H2；及包括胺基酸序列GLWFGEGY (SEQ ID NO: 49)之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體(或其抗原結合片段)包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列RSSQSLLYSNGYNYLD (SEQ ID NO: 82)之CDR-L1；包括胺基酸序列LGSNRAS (SEQ ID NO: 54)之CDR-L2；及包括胺基酸序列MQALQTPIT (SEQ ID NO: 71)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列SYAIS (SEQ ID NO: 85)之CDR-H1；包括胺基酸序列GIIPFGTANYAQKFQG (SEQ ID NO: 38)之CDR-H2；及包括胺基酸序列RDGSLGVGYYYMDF (SEQ ID NO: 50)之CDR-H3。

本文所述之CDR序列提供於下表2中。

表2

SEQ ID NO: 28	SYSMN	SEQ ID NO: 56	GASSRAT
SEQ ID NO: 29	TYVMH	SEQ ID NO: 57	KVSNRDS
SEQ ID NO: 30	SYGMH	SEQ ID NO: 58	ENDQRPS
SEQ ID NO: 31	SYAMH	SEQ ID NO: 59	LSSKRDS
SEQ ID NO: 32	SYSMN	SEQ ID NO: 63	MQALQTPYT
SEQ ID NO: 33	TYAMS	SEQ ID NO: 64	QQSYSIPYT
SEQ ID NO: 35	SISSSSSYIYYADSVKG	SEQ ID NO: 65	QQRSNWPLT
SEQ ID NO: 36	IINPSGGSTSYAQKFQG	SEQ ID NO: 66	MQGAHWPPT
SEQ ID NO: 37	VISYDGSNKYYADSVKG	SEQ ID NO: 67	QQRSNWPPT
SEQ ID NO: 38	GIPIFGTANYAQKFQG	SEQ ID NO: 68	QSYDFSTVV
SEQ ID NO: 39	GISGSGGATHYADSVKG	SEQ ID NO: 69	QQYGSSPGT
SEQ ID NO: 42	DLVVPAATLDY	SEQ ID NO: 70	MQGTHWPYT
SEQ ID NO: 43	ESYGGQFDY	SEQ ID NO: 71	MQALQTPIT
SEQ ID NO: 44	DGFGLAVAGPYWYFDL	SEQ ID NO: 75	RSSQSLLHGNGNNYLD
SEQ ID NO: 45	PTRSRDFWSGLGYYYMDV	SEQ ID NO: 76	RASQNIASYLN

SEQ ID NO: 46	DFYEAGGWYFDL	SEQ ID NO: 77	RASQSVSNNYLG
SEQ ID NO: 47	VGATTSLYYYYGMDV	SEQ ID NO: 78	RSSQSLVYSDGKTYLD
SEQ ID NO: 48	GIIVGPTDAFDI	SEQ ID NO: 79	RASQSVSSSYLA
SEQ ID NO: 49	GLWFGEGY	SEQ ID NO: 80	TRSRGSIASSYVQ
SEQ ID NO: 50	RDGSLGVGYYYMDF	SEQ ID NO: 81	RSSQSLYYRDGYTFLD
SEQ ID NO: 54	LGSNRAS	SEQ ID NO: 82	RSSQSLLYSNGYNYLD
SEQ ID NO: 55	AASSLK	SEQ ID NO: 85	SYAIS
SEQ ID NO: 125	VISYDGSNKHYADSVKG		

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體(或其抗原結合片段)包括選自由SEQ ID NO 86-94組成之群之輕鏈可變結構域序列及選自由SEQ ID NO 95-103組成之群之重鏈可變結構域序列。

SEQ ID NO: 86-103之胺基酸序列提供於下文中。

DVVMTQSPLSLPVTTPGESASISCRSSQSLLHGNGNNYLDWYLQK
PGQSPQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLQISRVEPEDVGVYY
CMQALQTPYTFGQGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL
LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN (SEQ ID NO: 86)

DVVMTQSPSSLSASVGDRVTVTTCRASQNIASYLNWYQQKPGKA
PKLLIYAASSLKSGVPSRFSGSGSGRDFTLTISSLQPEDFAAYYCQQSY
SIPYTFGQGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP
REAKVQWKVDNALQLGN (SEQ ID NO: 87)

EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSNNYLGWYQQKPGQA
 PRLLIYGASSRATGVPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQRS
 NWPLTFGGGKTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY
 PREAKVQWKVDNALQSGN (SEQ ID NO: 88)

DVVMQTQSPLSLSVTPGEPASISCRSSQSLVYSDGKTYLDWFLQR
 PGQSPRRLIYKVSNRDSGVSDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYY
 CMQGAHWPPFTFGQGTRVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL
 LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN (SEQ ID NO: 89)

EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAP
 RLLIYGASSRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQRN
 WPPTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY
 REAKVQWKVDNALQSGN (SEQ ID NO: 90)

NFMLTQPHSVSESPGKTVTVSCTRSRGSIASYVQWYQQRPGRS
 PTNVIYENDQRPSGVPTRFSGSVDRSSNSASLTISGLETEDEADYYCQ
 SYDFSTVVFGGGTKLTVLSQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS
 DFYPGAFTVAWKADSSPVKAG (SEQ ID NO: 91)

EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAP
 RLLIYGASSRATGIPDRFSVSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGS
 SPGTFGGGKTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY
 PREAKVQWKVDNALQSGN (SEQ ID NO: 92)

DVVMQTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLYYRDGYTFLDWYVQK
 PGQSPQLLIYLSSKRDSGVDPDRISGSGSGTDFTLRISRVEAEDVGVYY
 CMQGTHWPYTFGGGKTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL
 LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN (SEQ ID NO: 93)

DVVMQTQSPLSLAVTPGEPASISCRSSQSLLYSNGYNYLDWYLQK
 PGQSPQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYY

CMQALQTPITFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL
NNFYPREAKVQWKVDNALQSGN (SEQ ID NO: 94)

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCRASGFSFTTYMHVVRQAPG
QGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE
DTAVYYCARDLVVPAATLDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSK
STSGGTAALGCLVKDYFPEPVT (SEQ ID NO: 95)

EVQLVQTGGGAVQPGRSLRLSCAATGFTFSSYGMHVVRQAPGK
GLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAED
TAVYYCARESYGGQFDYWGPGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS
GGTAALGCLVKDYFPEPVT (SEQ ID NO: 96)

EVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHVVRQAPGK
GLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAED
TAVYYCARDGFGGLAVAGPYWYFDLWGRGTLTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT (SEQ ID NO: 97)

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQ
GLEWMGGIIPFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTA
VYYCAGPTRSRDFWSGLGYYYYMDVWGKGTTTVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT (SEQ ID NO: 98)

EVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHVVRQAPGK
GLEWVAVISYDGSNKHAYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAED
TAVYYCARDIFYEAGGWYFDLWGRGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSK
STSGGTAALGCLVKDYFPEPVT (SEQ ID NO: 99)

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQ
GLEWMGGIIPFGTA
YAKKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARVGATTSLYY
YYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV

KDYFPEPVT (SEQ ID NO: 100)

EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGK
GLEWVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDT
AVYYCARGIIVGPTDAFDIWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVT (SEQ ID NO: 101)

QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSTYAMSWVRQAPGK
GLEWVSGISGSGGATHYADSVKGRFTISRDNKNTVNLQMNSLRAED
TAVYYCAKGLWFGEGYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG
GTAALGCLVKDYFPEPVT (SEQ ID NO: 102)

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQ
GLEWMGGIIPFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTA
VYYCARDGSLGVGYYYMDFWGKGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK
STSGGTAALGCLVKDYFPEPVT (SEQ ID NO: 103)

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括包括SEQ ID NO: 86中所陳述之胺基酸序列之輕鏈可變結構域及包括SEQ ID NO: 95中所陳述之胺基酸序列之重鏈可變結構域。在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括包括SEQ ID NO: 87中所陳述之胺基酸序列之輕鏈可變結構域及包括SEQ ID NO: 96中所陳述之胺基酸序列之重鏈可變結構域。在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括包括SEQ ID NO: 88中所陳述之胺基酸序列之輕鏈可變結構域及包括SEQ ID NO: 97中所陳述之胺基酸序列之重鏈可變結構域。在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括包括SEQ ID NO: 89中所陳述之胺基酸序列之輕鏈可變結構域及包括SEQ ID NO: 98中所陳述之胺基酸序列之重鏈可變結構域。在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括包括SEQ ID NO: 90中所陳述之胺基酸序列之輕鏈可變結構域及包括SEQ ID NO: 99中所陳

述之胺基酸序列之重鏈可變結構域。在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括包括SEQ ID NO: 91中所陳述之胺基酸序列之輕鏈可變結構域及包括SEQ ID NO: 100中所陳述之胺基酸序列之重鏈可變結構域。在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括包括SEQ ID NO: 92中所陳述之胺基酸序列之輕鏈可變結構域及包括SEQ ID NO: 101中所陳述之胺基酸序列之重鏈可變結構域。在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括包括SEQ ID NO: 93中所陳述之胺基酸序列之輕鏈可變結構域及包括SEQ ID NO: 102中所陳述之胺基酸序列之重鏈可變結構域。在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括包括SEQ ID NO: 94中所陳述之胺基酸序列之輕鏈可變結構域及包括SEQ ID NO: 103中所陳述之胺基酸序列之重鏈可變結構域。

將重鏈及輕鏈可變結構域以所有可能倆倆成對方式加以組合，以生成諸多抗VEGFR2抗體。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體(或其抗原結合片段)競爭性抑制第二抗VEGFR2抗體至人類VEGFR2之結合。在一些實施例中，第二抗VEGFR2抗體係包括以下部分之抗VEGFR2抗體之變體：輕鏈可變結構域序列，其包括：包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO: 1)之CDR-L1；包括胺基酸序列LSS (SEQ ID NO: 2)之CDR-L2；及包括胺基酸序列MQGTHWPYT (SEQ ID NO: 3)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括：包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；包括胺基酸序列ISGSGGAT (SEQ ID NO: 5)之CDR-H2；及包括胺基酸序列KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 6)之CDR-H3，其中該變體包括SEQ ID NO: 1、2、3、4、5及/或6中之一或多者中之至少一個胺基酸取代。在一些實施例中，該變體包括SEQ ID NO: 1、2、3、4、5及/或6中之一或多者中之至少1個、至少2個、至少3個、

至少4個、至少5個、至少6個、至少7個、至少8個、至少9個或至少10個胺基酸取代。在某些實施例中，胺基酸取代係保守胺基酸取代。在某些實施例中，胺基酸取代實質上不減低抗體結合抗原之能力。舉例而言，可作出實質上不減低VEGFR2結合親和力之保守改變(例如如本文(例如在下表3中)所提供之保守取代)。可使用下文實例中所闡述之方法評價抗VEGFR2抗體變體之結合親和力。

保守取代展示於表3中之「保守取代」標題下。更多實質性變化提供於表3之「實例性取代」標題下，且如下文參照胺基酸側鏈種類進一步所闡述。可將胺基酸取代引入所關注抗體及經篩選具有期望活性之產物中，該期望活性係(例如)保留/改良之VEGFR2結合、降低之免疫原性或經改良之ADCC或CDC。

表3：保守取代

原始殘基	實例性取代	較佳取代
Ala (A)	Val ; Leu ; Ile	Val
Arg (R)	Lys ; Gln ; Asn	Lys
Asn (N)	Gln ; His ; Asp, Lys ; Arg	Gln
Asp (D)	Glu ; Asn	Glu
Cys (C)	Ser ; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn ; Glu	Asn
Glu (E)	Asp ; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn ; Gln ; Lys ; Arg	Arg
Ile (I)	Leu ; Val ; Met ; Ala ; Phe ; 正白胺酸	Leu
Leu (L)	正白胺酸 ; Ile ; Val ; Met ; Ala ; Phe	Ile
Lys (K)	Arg ; Gln ; Asn	Arg
Met (M)	Leu ; Phe ; Ile	Leu

Phe (F)	Trp ; Leu ; Val ; Ile ; Ala ; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val ; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr ; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp ; Phe ; Thr ; Ser	Phe
Val (V)	Ile ; Leu ; Met ; Phe ; Ala ; 正 白胺酸	Leu

非保守性取代使得需要將該等種類之一種之成員與另一種類交換。實例性取代變體係親和力成熟抗體，其可便利地(例如)使用基於噬菌體展示之親和力成熟技術(例如闡述於本文中者)生成。簡言之，使一或多個CDR殘基突變且將變體抗體展示於噬菌體上並篩選具體生物學活性(例如結合親和力)。可對HVR作出改變(例如取代)以(例如)改良抗體親和力。該等改變可在HVR 「熱點」(亦即由在體細胞成熟過程期間以高頻率經歷突變之密碼子編碼之殘基)(例如參見Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008))及/或SDR (a-CDR)中進行，其中測試所得變體VH或VL之結合親和力。藉由自二級文庫構築及重新選擇來達成親和力成熟已闡述於(例如) Hoogenboom等人, *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien等人編輯, Human Press, Totowa, NJ, (2001))中。

在親和力成熟之一些實施例中，藉由各種方法(例如易錯PCR、鏈改組或寡核苷酸引導之誘變)中之任一者將多樣性引入所選用於成熟之可變基因中。然後建立二級文庫。然後篩選文庫以鑑別具有期望親和力之任一抗體變體。引入多樣性之另一方法涉及HVR指導之方法，其中將若干HVR殘基(例如一次4至6個殘基)隨機化。可具體鑑別(例如使用丙胺酸掃描誘變或建模)參與抗原結合之HVR殘基。特定而言，通常靶向CDR-H3及CDR-L3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體(或其抗原結合片段)結合由第二抗VEGFR2抗體(或其抗原結合片段)結合之人類VEGFR2之同一表位。在某些實施例中，第二抗VEGFR2抗體(或其抗原結合片段)係包括以下部分之抗VEGFR2抗體之變體：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO: 1)之CDR-L1；包括胺基酸序列LSS (SEQ ID NO: 2)之CDR-L2；及包括胺基酸序列MQGTHWPYT (SEQ ID NO: 3)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；包括胺基酸序列ISGSGGAT (SEQ ID NO: 5)之CDR-H2；及包括胺基酸序列KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 6)之CDR-H3，其中該變體包括SEQ ID NO: 1、2、3、4、5及/或6中之一或多者中之至少一個胺基酸取代。在一些實施例中，該變體包括SEQ ID NO: 1、2、3、4、5及/或6中之一或多者中之至少1個、至少2個、至少3個、至少4個、至少5個、至少6個、至少7個、至少8個、至少9個或至少10個胺基酸取代。在某些實施例中，胺基酸取代係保守胺基酸取代。在某些實施例中，胺基酸取代實質上不減低抗體結合抗原之能力。舉例而言，可作出實質上不減低VEGFR2結合親和力之保守改變(例如如本文(例如在上表3中)所提供之保守取代)。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體(或其抗原結合片段)係包括以下部分之抗VEGFR2抗體之變體：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO: 1)之CDR-L1；包括胺基酸序列LSS (SEQ ID NO: 2)之CDR-L2；及包括胺基酸序列MQGTHWPYT (SEQ ID NO: 3)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；包括胺基酸序列ISGSGGAT (SEQ ID NO: 5)之CDR-H2；及包括胺基酸序列KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 6)之CDR-H3，其中該變體包括SEQ ID

NO: 1、2、3、4、5及/或6中之一或多者中之至少一個胺基酸取代。在一些實施例中，該變體包括SEQ ID NO: 1、2、3、4、5及/或6中之一或多者中之至少1個、至少2個、至少3個、至少4個、至少5個、至少6個、至少7個、至少8個、至少9個或至少10個胺基酸取代。在某些實施例中，胺基酸取代係保守胺基酸取代。在某些實施例中，胺基酸取代實質上不減低抗體結合抗原之能力。舉例而言，可作出實質上不減低VEGFR2結合親和力之保守改變(例如如本文(例如在上表3中)所提供之保守取代)。可使用下文實例中所闡述之方法評價抗VEGFR2抗體變體之結合親和力。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體競爭性抑制第二抗VEGFR2抗體至人類VEGFR2之結合，其中第二抗VEGFR2抗體(或其抗原結合片段)包括：輕鏈可變結構域，其包括包括胺基酸序列QSLYYR-D/S-GYTF (SEQ ID NO: 22)之CDR-L1；包括胺基酸序列L/Q/R-SS (SEQ ID NO: 23)之CDR-L2；及包括胺基酸序列M/L/F-QGTHWPYT (SEQ ID NO: 24)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列G/R-F-S/T/P-FSTYA (SEQ ID NO: 25)之CDR-H1；包括胺基酸序列I-S/N-G-S/N-G/S-G/Q-A/T-T (SEQ ID NO: 26)之CDR-H2；及包括胺基酸序列KGLWFGEG-Y/L/I (SEQ ID NO: 27)之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體與第二抗VEGFR2抗體結合人類VEGFR2之同一表位，其中第二抗VEGFR2抗體(或其抗原結合片段)包括：輕鏈可變結構域，其包括包括胺基酸序列QSLYYR-D/S-GYTF (SEQ ID NO: 22)之CDR-L1；包括胺基酸序列L/Q/R-SS (SEQ ID NO: 23)之CDR-L2；及包括胺基酸序列M/L/F-QGTHWPYT (SEQ ID NO: 24)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列G/R-F-S/T/P-FSTYA (SEQ ID NO: 25)之CDR-H1；包括胺基酸序列I-S/N-G-S/N-G/S-G/Q-A/T-T (SEQ ID NO: 26)之CDR-H2；及包括胺基酸序列

KGLWFGEG-Y/L/I (SEQ ID NO: 27)之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體(或其抗原結合片段)係包括以下部分之抗VEGFR2抗體之變體：輕鏈可變結構域，其包括包括胺基酸序列QSLYYR-D/S-GYTF (SEQ ID NO: 22)之CDR-L1；包括胺基酸序列L/Q/R-SS (SEQ ID NO: 23)之CDR-L2；及包括胺基酸序列M/L/F-QGTHWPYT (SEQ ID NO: 24)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列G/R-F-S/T/P-FSTYA (SEQ ID NO: 25)之CDR-H1；包括胺基酸序列I-S/N-G-S/N-G/S-G/Q-A/T-T (SEQ ID NO: 26)之CDR-H2；及包括胺基酸序列KGLWFGEG-Y/L/I (SEQ ID NO: 27)之CDR-H3，其中該變體包括SEQ ID NO: 1、2、3、4、5及/或6中之一或多者中之至少一個胺基酸取代。在一些實施例中，該變體包括SEQ ID NO: 1、2、3、4、5及/或6中之一或多者中之至少1個、至少2個、至少3個、至少4個、至少5個、至少6個、至少7個、至少8個、至少9個或至少10個胺基酸取代。在某些實施例中，胺基酸取代係保守胺基酸取代。在某些實施例中，胺基酸取代實質上不減低抗體結合抗原之能力。舉例而言，可作出實質上不減低VEGFR2結合親和力之保守改變(例如如本文(例如在上表3中)所提供之保守取代)。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體(或其抗原結合片段)包括：輕鏈可變結構域，其包括包括胺基酸序列QSLYYR-D/S-GYTF (SEQ ID NO: 22)之CDR-L1；包括胺基酸序列L/Q/R-SS (SEQ ID NO: 23)之CDR-L2；及包括胺基酸序列M/L/F-QGTHWPYT (SEQ ID NO: 24)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列G/R-F-S/T/P-FSTYA (SEQ ID NO: 25)之CDR-H1；包括胺基酸序列I-S/N-G-S/N-G/S-G/Q-A/T-T (SEQ ID NO: 26)之CDR-H2；及包括胺基酸序列KGLWFGEG-Y/L/I (SEQ ID NO: 27)之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括：輕鏈

可變結構域序列，其包括包括選自由SEQ ID NO: 1及16組成之群之胺基酸序列之CDR-L1；包括選自由SEQ ID NO: 2、7及8組成之群之胺基酸序列之CDR-L2；及包括選自由SEQ ID NO: 3、9及12組成之群之胺基酸序列之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括選自由SEQ ID NO: 4及13-15組成之群之胺基酸序列之CDR-H1；包括選自由SEQ ID NO: 5及17-21組成之群之胺基酸序列之CDR-H2；及包括選自由SEQ ID NO: 6及10-11組成之群之胺基酸序列之CDR-H3。本文所述之CDR序列提供於下表4中。

表4

SEQ ID NO: 1	QSLYYRDG YTF	SEQ ID NO: 8	RSS	SEQ ID NO: 15	RFSFSTYA
SEQ ID NO: 2	LSS	SEQ ID NO: 9	LQGTHWPY T	SEQ ID NO: 16	QSLYYRSGYTF
SEQ ID NO: 3	MQGTHWP YT	SEQ ID NO: 10	KGLWFG EGL	SEQ ID NO: 17	INGSGGAT
SEQ ID NO: 4	GFSFSTYA	SEQ ID NO: 11	KGLWFG EGI	SEQ ID NO: 18	ISGSSGAT
SEQ ID NO: 5	ISGSGGAT	SEQ ID NO: 12	FQGTHWPY T	SEQ ID NO: 19	ISGNNGGAT
SEQ ID NO: 6	KGLWFG EG Y	SEQ ID NO: 13	GFTFSTYA	SEQ ID NO: 20	ISGSGQAT
SEQ ID NO: 7	QSS	SEQ ID NO: 14	GFPFSTYA	SEQ ID NO: 21	ISGSGGTT

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體(或其抗原結合片段)包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO: 1)之CDR-L1；包括胺基酸序列LSS (SEQ ID NO: 2)之CDR-L2；及包括胺基酸序列MQGTHWPYT (SEQ ID NO: 3)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)

之CDR-H1；包括胺基酸序列ISGSGGAT (SEQ ID NO: 5)之CDR-H2；及包括胺基酸序列KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 6)之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體(或其抗原結合片段)包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO: 1)之CDR-L1；包括胺基酸序列QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及包括胺基酸序列MQGTHWPYT (SEQ ID NO: 3)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；包括胺基酸序列ISGSGGAT (SEQ ID NO: 5)之CDR-H2；及包括胺基酸序列KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 6)之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO:1)之CDR-L1；包括胺基酸序列RSS (SEQ ID NO: 8)之CDR-L2；及包括胺基酸序列LQGTHWPYT (SEQ ID NO: 9)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；包括胺基酸序列ISGSGGAT (SEQ ID NO: 5)之CDR-H2；及包括胺基酸序列KGLWFG EGL (SEQ ID NO: 10)之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO:1)之CDR-L1；包括胺基酸序列QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及包括胺基酸序列LQGTHWPYT (SEQ ID NO: 9)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；包括胺基酸序列ISGSGGAT (SEQ ID NO: 5)之CDR-H2；及包括胺基酸序列KGLWFGEGI (SEQ ID NO: 11)之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO:1)之CDR-L1；包括胺基酸序列QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；

及包括胺基酸序列LQGTHWPYT (SEQ ID NO: 9)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；包括胺基酸序列ISGSGGAT (SEQ ID NO: 5)之CDR-H2；及包括胺基酸序列KGLWFG EGL (SEQ ID NO: 10)之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO:1)之CDR-L1；包括胺基酸序列QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及包括胺基酸序列FQGTHWPYT (SEQ ID NO: 12)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；包括胺基酸序列ISGSGGAT (SEQ ID NO: 5)之CDR-H2；及包括胺基酸序列KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 6)之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體(或其抗原結合片段)包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO: 1)之CDR-L1；包括胺基酸序列QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及包括胺基酸序列MQGTHWPYT (SEQ ID NO: 3)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；包括胺基酸序列ISGSGGAT (SEQ ID NO: 5)之CDR-H2；及包括胺基酸序列KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 6)之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO:1)之CDR-L1；包括胺基酸序列QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及包括胺基酸序列LQGTHWPYT (SEQ ID NO: 9)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；包括胺基酸序列ISGSGGAT (SEQ ID NO: 5)之CDR-H2；及包括胺基酸序列KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 6)之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體(或其抗原結合片段)包括：輕

鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列SLYYRDGYTF (SEQ ID NO: 1)之CDR-L1；包括胺基酸序列QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及包括胺基酸序列FQGTHWPYT (SEQ ID NO: 12)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；包括胺基酸序列ISGSGGAT (SEQ ID NO: 5)之CDR-H2；及包括胺基酸序列KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 6)之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO:1)之CDR-L1；包括胺基酸序列QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及包括胺基酸序列MQGTHWPYT (SEQ ID NO: 3)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；包括胺基酸序列ISGSGGAT (SEQ ID NO: 5)之CDR-H2；及包括胺基酸序列KGLWFG EGL (SEQ ID NO: 10)之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO:1)之CDR-L1；包括胺基酸序列QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及包括胺基酸序列FQGTHWPYT (SEQ ID NO: 12)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；包括胺基酸序列ISGSGGAT (SEQ ID NO: 5)之CDR-H2；及包括胺基酸序列KGLWFG EGL (SEQ ID NO: 10)之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO:1)之CDR-L1；包括胺基酸序列QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及包括胺基酸序列LQGTHWPYT (SEQ ID NO: 9)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列GFTFSTYA (SEQ ID NO: 13)之CDR-H1；包括胺基酸序列INGSGGAT (SEQ ID NO: 17)之CDR-

H2；及包括胺基酸序列KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 6)之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO:1)之CDR-L1；包括胺基酸序列QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及包括胺基酸序列LQGTHWPYT (SEQ ID NO: 9)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列GFTFSTYA (SEQ ID NO: 13)之CDR-H1；包括胺基酸序列INGSGGAT (SEQ ID NO: 17)之CDR-H2；及包括胺基酸序列KGLWFG EGL (SEQ ID NO: 10)之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO:1)之CDR-L1；包括胺基酸序列QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及包括胺基酸序列LQGTHWPYT (SEQ ID NO: 9)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；包括胺基酸序列ISGSSGAT (SEQ ID NO: 18)之CDR-H2；及包括胺基酸序列KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 6)之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO:1)之CDR-L1；包括胺基酸序列QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及包括胺基酸序列LQGTHWPYT (SEQ ID NO: 9)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；包括胺基酸序列ISGSSGAT (SEQ ID NO: 18)之CDR-H2；及包括胺基酸序列KGLWFG EGL (SEQ ID NO: 10)之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO:1)之CDR-L1；包括胺基酸序列QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及包括胺基酸序列MQGTHWPYT (SEQ ID NO: 3)之CDR-L3；及重鏈

可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列GFPFSTYA (SEQ ID NO: 14)之CDR-H1；包括胺基酸序列ISGNGGAT (SEQ ID NO: 19)之CDR-H2；及包括胺基酸序列KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 6)之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體(或其抗原結合片段)包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列QSLYYRSGYTF (SEQ ID NO: 16)之CDR-L1；包括胺基酸序列QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及包括胺基酸序列MQGTHWPYT (SEQ ID NO: 3)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列RFSFSTYA (SEQ ID NO: 15)之CDR-H1；包括胺基酸序列ISGSGQAT (SEQ ID NO: 20)之CDR-H2；及包括胺基酸序列KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 6)之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列QSLYYRSGYTF (SEQ ID NO: 16)之CDR-L1；包括胺基酸序列QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及包括胺基酸序列FQGTHWPYT (SEQ ID NO: 12)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；包括胺基酸序列ISGSGGTT (SEQ ID NO: 21)之CDR-H2；及包括胺基酸序列KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 6)之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列QSLYYRSGYTF (SEQ ID NO: 16)之CDR-L1；包括胺基酸序列QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及包括胺基酸序列FQGTHWPYT (SEQ ID NO: 12)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；包括胺基酸序列ISGSGGTT (SEQ ID NO: 21)之CDR-H2；及包括胺基酸序列KGLWFG EGL (SEQ ID NO: 10)之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID

NO:1)之CDR-L1；包括胺基酸序列QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及包括胺基酸序列LQGTHWPYT (SEQ ID NO: 9)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列GFTFSTYA (SEQ ID NO: 13)之CDR-H1；包括胺基酸序列INGSGGAT (SEQ ID NO: 17)之CDR-H2；及包括胺基酸序列KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 6)之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO:1)之CDR-L1；包括胺基酸序列QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及包括胺基酸序列LQGTHWPYT (SEQ ID NO: 9)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列GFTFSTYA (SEQ ID NO: 13)之CDR-H1；包括胺基酸序列INGSGGAT (SEQ ID NO: 17)之CDR-H2；及包括胺基酸序列KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 10)之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO:1)之CDR-L1；包括胺基酸序列QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及包括胺基酸序列LQGTHWPYT (SEQ ID NO: 9)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；包括胺基酸序列ISGSSGAT (SEQ ID NO: 18)之CDR-H2；及包括胺基酸序列KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 6)之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO:1)之CDR-L1；包括胺基酸序列QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及包括胺基酸序列LQGTHWPYT (SEQ ID NO: 9)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；包括胺基酸序列ISGSSGAT (SEQ ID NO: 18)之CDR-H2；及包括胺基酸序列KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 10)之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO:1)之CDR-L1；包括胺基酸序列QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及包括胺基酸序列MQGTHWPYT (SEQ ID NO: 3)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列GFPFSTYA (SEQ ID NO: 14)之CDR-H1；包括胺基酸序列ISGNGGAT (SEQ ID NO: 19)之CDR-H2；及包括胺基酸序列KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 6)之CDR-H3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體包括含有SEQ ID NO: 107-113中之任一者中所陳述之胺基酸序列之輕鏈可變結構域(V_L)。在某些實施例中，抗VEGFR2抗體包括含有SEQ ID NO: 114-124中所陳述之胺基酸序列之重鏈可變結構域(V_H)。SEQ ID NO: 107-124之胺基酸序列提供於下文中。

DVVM TQSPLS LPVTLGQPAS ISCRSSQSLY YRDGYTFLDWY
VQKPGQSPQL LIYLSSKRDS GVPDRISGSG SGTDFTLRIS
RVEAEDVGVY YCMQGTHWPYT FGQG TKLEIK RTVAAPSVFI
FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSGN (SEQ
ID NO: 107)

DVVM TQSPLS LPVTLGQPAS ISCRSSQSLY YRDGYTFLDWY
VQKPGQSPQL LIYQSSKRDS GVPDRISGSG SGTDFTLRIS
RVEAEDVGVY YCMQGTHWPYT FGQG TKLEIK RTVAAPSVFI
FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSGN (SEQ
ID NO: 108)

DVVM TQSPLS LPVTLGQPAS ISCRSSQSLY YRDGYTFLDWY
VQKPGQSPQL LIYRSSKRDS GVPDRISGSG SGTDFTLRIS
RVEAEDVGVY YCLQGTHWPYT FGQG TKLEIK RTVAAPSVFI
FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSGN (SEQ

ID NO: 109)

DVVMTQSPLS LPVTLGQPAS ISCRSSQSLY YRDGYTFLDWY
VQKPGQSPQL LIYQSSKRDS GVPDRISGSG SGTDFTLRIS
RVEAEDVGVY YCLQGTHWPYT FGQGTKLEIK RTVAAPSVFI
FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSGN (SEQ
ID NO: 110)

DVVMTQSPLS LPVTLGQPAS ISCRSSQSLY YRDGYTFLDWY
VQKPGQSPQL LIYQSSKRDS GVPDRISGSG SGTDFTLRIS
RVEAEDVGVY YCFQGTHWPYT FGQGTKLEIK RTVAAPSVFI
FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSGN (SEQ
ID NO: 111)

DVVMTQSPLS LPVTLGQPAS ISCRSSQSLY YRSGYTFLDWY
VQKPGQSPQL LIYQSSKRDS GVPDRISGSG SGTDFTLRIS
RVEAEDVGVY YCMQGTHWPYT FGQGTKLEIK RTVAAPSVFI
FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSGN (SEQ
ID NO: 112)

DVVMTQSPLS LPVTLGQPAS ISCRSSQSLY YRSGYTFLDWY
VQKPGQSPQL LIYQSSKRDS GVPDRISGSG SGTDFTLRIS
RVEAEDVGVY YCFQGTHWPYT FGQGTKLEIK RTVAAPSVFI
FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSGN (SEQ
ID NO: 113)

QVQLVQSGGG LVQPGGSLRL SCAASGFSFS TYAMSWVRQA
PGKGLEWVSG ISGSGGATHY ADSVKGRFTI SRDNSKNTVN
LQMNSLRAED TAVYYCAKGL WFGEGYWGQG TLVTVSSAST
KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVT (SEQ ID NO:
114)

QVQLVQSGGG LVQPGGSLRL SCAASGFSFS TYAMSWVRQA
 PGKGLEWVSG ISGSGGATHY ADSVKGRFTI SRDNSKNTVN
 LQMNSLRAED TAVYYCAKGL WFGEGLWGQG TLVTVSSAST
 KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVT (SEQ ID NO:
 115)

QVQLVQSGGG LVQPGGSLRL SCAASGFSFS TYAMSWVRQA
 PGKGLEWVSG ISGSGGATHY ADSVKGRFTI SRDNSKNTVN
 LQMNSLRAED TAVYYCAKGL WFGEGIWGQG TLVTVSSAST
 KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVT (SEQ ID NO:
 116)

QVQLVQSGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS TYAMSWVRQA
 PGKGLEWVSG INSGGATHY ADSVKGRFTI SRDNSKNTVN
 LQMNSLRAED TAVYYCAKGL WFGEGYWGQG TLVTVSSAST
 KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVT (SEQ ID NO:
 117)

QVQLVQSGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS TYAMSWVRQA
 PGKGLEWVSG INSGGATHY ADSVKGRFTI SRDNSKNTVN
 LQMNSLRAED TAVYYCAKGL WFGEGLWGQG TLVTVSSAST
 KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVT (SEQ ID NO:
 118)

QVQLVQSGGG LVQPGGSLRL SCAASGFSFS TYAMSWVRQA
 PGKGLEWVSG ISGSSGATHY ADSVKGRFTI SRDNSKNTVN
 LQMNSLRAED TAVYYCAKGL WFGEGYWGQG TLVTVSSAST
 KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVT (SEQ ID NO:
 119)

QVQLVQSGGG LVQPGGSLRL SCAASGFSFS TYAMSWVRQA

PGKGLEWVSG ISGSSGATHY ADSVKGRFTI SRDNSKNTVN
LQMNSLRAED TAVYYCAKGL WFG EGLWGQG TLVTVSSAST
KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVT (SEQ ID NO:
120)

QVQLVQSGGG LVQPGGSLRL SCAASGFPFS TYAMSWVRQA
PGKGLEWVSG ISGNGGATHY ADSVKGRFTI SRDNSKNTVN
LQMNSLRAED TAVYYCAKGL WFG EGYWGQG TLVTVSSAST
KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVT (SEQ ID NO:
121)

QVQLVQSGGG LVQPGGSLRL SCAASRFSFS TYAMSWVRQA
PGKGLEWVSG ISGSGQATHY ADSVKGRFTI SRDNSKNTVN
LQMNSLRAED TAVYYCAKGL WFG EGYWGQG TLVTVSSAST
KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVT (SEQ ID NO:
122)

QVQLVQSGGG LVQPGGSLRL SCAASGFSFS TYAMSWVRQA
PGKGLEWVSG ISGSGGTTHY ADSVKGRFTI SRDNSKNTVN
LQMNSLRAED TAVYYCAKGL WFG EGYWGQG TLVTVSSAST
KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVT (SEQ ID NO:
123)

QVQLVQSGGG LVQPGGSLRL SCAASGFSFS TYAMSWVRQA
PGKGLEWVSG ISGSGGTTHY ADSVKGRFTI SRDNSKNTVN
LQMNSLRAED TAVYYCAKGL WFG EGLWGQG TLVTVSSAST
KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVT (SEQ ID NO:
124)

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括包括

SEQ ID NO: 107中所陳述之胺基酸序列之輕鏈可變結構域及包括SEQ ID NO: 114中所陳述之胺基酸序列之重鏈可變結構域。在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括包括SEQ ID NO: 108中所陳述之胺基酸序列之輕鏈可變結構域及包括SEQ ID NO: 114中所陳述之胺基酸序列之重鏈可變結構域。在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括包括SEQ ID NO: 109中所陳述之胺基酸序列之輕鏈可變結構域及包括SEQ ID NO: 115中所陳述之胺基酸序列之重鏈可變結構域。在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括包括SEQ ID NO: 110中所陳述之胺基酸序列之輕鏈可變結構域及包括SEQ ID NO: 116中所陳述之胺基酸序列之重鏈可變結構域。在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括包括SEQ ID NO: 110中所陳述之胺基酸序列之輕鏈可變結構域及包括SEQ ID NO: 115中所陳述之胺基酸序列之重鏈可變結構域。在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括包括SEQ ID NO: 111中所陳述之胺基酸序列之輕鏈可變結構域及包括SEQ ID NO: 114中所陳述之胺基酸序列之重鏈可變結構域。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括包括SEQ ID NO: 110中所陳述之胺基酸序列之輕鏈可變結構域及包括SEQ ID NO: 114中所陳述之胺基酸序列之重鏈可變結構域。在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括包括SEQ ID NO: 111中所陳述之胺基酸序列之輕鏈可變結構域及包括SEQ ID NO: 114中所陳述之胺基酸序列之重鏈可變結構域。在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括包括SEQ ID NO: 108中所陳述之胺基酸序列之輕鏈可變結構域及包括SEQ ID NO: 115中所陳述之胺基酸序列之重鏈可變結構域。在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括包括SEQ ID NO: 111中所陳述之胺基酸序列之輕鏈可變結構域及包

括SEQ ID NO: 115中所陳述之胺基酸序列之重鏈可變結構域。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括包括SEQ ID NO: 110中所陳述之胺基酸序列之輕鏈可變結構域及包括SEQ ID NO: 117中所陳述之胺基酸序列之重鏈可變結構域。在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括包括SEQ ID NO: 110中所陳述之胺基酸序列之輕鏈可變結構域及包括SEQ ID NO: 118中所陳述之胺基酸序列之重鏈可變結構域。在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括包括SEQ ID NO: 110中所陳述之胺基酸序列之輕鏈可變結構域及包括SEQ ID NO: 119中所陳述之胺基酸序列之重鏈可變結構域。在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括包括SEQ ID NO: 110中所陳述之胺基酸序列之輕鏈可變結構域及包括SEQ ID NO: 120中所陳述之胺基酸序列之重鏈可變結構域。在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括包括SEQ ID NO: 108中所陳述之胺基酸序列之輕鏈可變結構域及包括SEQ ID NO: 121中所陳述之胺基酸序列之重鏈可變結構域。在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括包括SEQ ID NO: 112中所陳述之胺基酸序列之輕鏈可變結構域及包括SEQ ID NO: 122中所陳述之胺基酸序列之重鏈可變結構域。在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括包括SEQ ID NO: 112中所陳述之胺基酸序列之輕鏈可變結構域及包括SEQ ID NO: 123中所陳述之胺基酸序列之重鏈可變結構域。在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括包括SEQ ID NO: 112中所陳述之胺基酸序列之輕鏈可變結構域及包括SEQ ID NO: 124中所陳述之胺基酸序列之重鏈可變結構域。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括包括SEQ ID NO: 110中所陳述之胺基酸序列之輕鏈可變結構域及包括SEQ ID NO: 117中所陳述之胺基酸序列之重鏈可變結構域。在某些實施例

中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括包括SEQ ID NO: 110中所陳述之胺基酸序列之輕鏈可變結構域及包括SEQ ID NO: 118中所陳述之胺基酸序列之重鏈可變結構域。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體包括包括SEQ ID NO: 110中所陳述之胺基酸序列之輕鏈可變結構域及包括SEQ ID NO: 119中所陳述之胺基酸序列之重鏈可變結構域。在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括包括SEQ ID NO: 110中所陳述之胺基酸序列之輕鏈可變結構域及包括SEQ ID NO: 120中所陳述之胺基酸序列之重鏈可變結構域。在某些實施例中，抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段包括包括SEQ ID NO: 108中所陳述之胺基酸序列之輕鏈可變結構域及包括SEQ ID NO: 121中所陳述之胺基酸序列之重鏈可變結構域。

以所有可能逐對組合來組合重鏈及輕鏈可變結構域以生成諸多抗VEGFR2抗體。

在某些實施例中，抗體包括人類IgG（例如人類IgG1或人類IgG4）之Fc序列。在某些實施例中，Fc序列已發生改變或以其他方式有所變化，從而其缺乏抗體依賴性細胞細胞毒性(ADCC)效應物功能，此通常與其結合至Fc受體(FcR)相關。存在可改變效應物功能之Fc序列變化或突變之許多實例。舉例而言，WO 00/42072及Shields等人，*J Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604 (2001)闡述具有改良或減弱之FcR結合之抗體變體。彼等公開案之內容以引用方式具體併入本文中。抗體可呈Fab、Fab'、F(ab)'₂、單鏈Fv (scFv)、Fv片段、雙價抗體及線性抗體之形式。同樣，抗體可為結合EGFR之多特異性抗體，但亦結合一或多種其他靶且抑制其功能。該抗體可偶聯至治療劑(例如細胞毒性劑、放射性同位素及化學治療劑)或用於藉由成像檢測患者試樣中或活體內之VEGFR2之標記(例如放射性同位素、螢光染劑及酶)。

亦涵蓋編碼抗VEGFR2抗體之核酸分子、包括編碼本文所闡述之

CDR及/或重鏈可變結構域及/或輕鏈可變結構域之核酸分子之表現載體及包括核酸分子之細胞。該等抗體可用於本文所闡述之療法中且檢測患者試樣(例如經由FACS、免疫組織化學(IHC)、ELISA分析)或患者中之VEGFR2蛋白。

功能特性

在某些實施例中，本文所提供之抗VEGFR2抗體對VEGFR2之結合親和力強於針對VEGFR2同系物(例如VEGFR1/FLT1或VEGFR3/FLT4/PCL/Chy)之結合親和力。通常，本文所提供之抗VEGFR2抗體「特異性結合」至VEGFR2(亦即結合親和力(Kd)值不超過約 1×10^{-7} M、較佳地不超過約 1×10^{-8} 及最佳地不超過約 1×10^{-9} M)，但對VEGFR家族成員之結合親和力比針對VEGFR2之結合親和力弱至少約50倍或至少約500倍或至少約1000倍。在某些實施例中，本文所提供之抗VEGFR2抗體具有小於 1×10^{-9} M之Kd。特異性結合VEGFR2之抗VEGFR2抗體可為如上文所定義各種類型抗體中之任一者，但較佳係人類化或人類抗體。

在一些實施例中，抗VEGFR2抗體至非靶蛋白(例如VEGFR1/FLT1或VEGFR3/FLT4/PCL/Chy)之結合程度小於抗體至VEGFR2之結合之約10%，如藉由業內已知方法(例如ELISA、螢光活化細胞分選(FACS)分析或放射免疫沈澱(RIA))所測定。舉例而言，可藉由與對照分子結合相比測定分子結合來量測特異性結合，對照分子通常係具有類似結構且不具有結合活性之分子。舉例而言，可藉由與類似於靶之對照分子(例如過量非標記靶)進行競爭來測定特異性結合。在此情形下，若經標記靶至探針之結合由過量未標記靶競爭性抑制，則可指示特異性結合。本文所用之術語「特異性結合」或「特異性結合至」或「特異性於」特定多肽或特定多肽靶上之表位可展現為(例如)分子對該靶之Kd為至少約 10^{-4} M或者至少約 10^{-5} M或者至少約

10^{-6} M或者至少約 10^{-7} M或者至少約 10^{-8} M或者至少約 10^{-9} M或者至少約 10^{-10} M或者至少約 10^{-11} M或者至少約 10^{-12} M或更大。在一實施例中，術語「特異性結合」係指分子結合至特定多肽或特定多肽上之表位且實質上不結合至任一其他多肽或多肽表位之結合。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體亦結合至VEGFR3。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體以以下Kd結合人類VEGFR2：介於約0.1 pM至200 pM (0.2 nM)之間，例如約0.1 pM、約0.25 pM、約0.5 pM、約0.75 pM、約1 pM、約5 pM、約10 pM、約20 pM、約30 pM、約40 pM、約50 pM、約60 pM、約70 pM、約80 pM、約90 pM、約100 pM、約110 pM、約120 pM、約130 pM、約140 pM、約150 pM、約160 pM、約170 pM、約180 pM、約190 pM或大於約190 pM，包含該等值之間之任一範圍。在某些實施例中，抗VEGFR2抗體對VEGFR2之結合親和力高於1121B (參見US 2009/0306348)或1121N (參見US 7,498,414)對VEGFR2之結合親和力約1%、約5%、約10%、約15%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%、約100%或大於約100% (例如約105%、約110%、約120%或約130%)。在某些實施例中，抗VEGFR2對VEGFR2之結合親和力高於1121B (參見US 2009/0306348)或1121N (參見US 7,498,414)對VEGFR2之結合親和力約1.1倍、約1.2倍、約1.3倍、約1.4倍、約1.5倍、約1.6倍、約1.7倍、約1.8倍、約1.9倍、約2倍、約2.25倍、約2.5倍、約2.75倍、約3倍、約3.25倍、約3.5倍、約3.75倍、約4倍、約4.25倍、約4.5倍、約4.75倍或大於約4.75倍(包含該等值之間之任一範圍)。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體結合人類臍靜脈內皮細胞(HUVECS)。在某些實施例中，抗VEGFR2抗體抑制HUVEC管形成。在某些實施例中，抗VEGFR2抗體抑制HUVEC遷移。在某些實施例

中，抗VEGFR2抗體抑制HUVEC存活。在某些實施例中，抗VEGFR2抗體抑制HUVEC增殖。在某些實施例中，抗VEGFR2抗體抑制HUVEC發芽。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體抑制活體外血管生成。在某些實施例中，抗VEGFR2抗體抑制活體內血管生成。

在某些實施例中，抗VEGFR2抗體抑制VEGF-C刺激之人類淋巴管內皮細胞(HLEC)增殖。在某些實施例中，抗VEGFR2抗體抑制VEGF-C刺激之VEGFR-2磷酸化。在某些實施例中，抗VEGFR2抗體亦抑制VEGF-C刺激之VEGFR-3磷酸化。

單株抗體

單株抗體可(例如)使用雜交瘤方法(例如由Kohler及Milstein, *Nature*, 256:495 (1975)闡述者)製得，或可藉由重組DNA方法(美國專利第4,816,567號)製得，或可藉由下文實例中之本文所闡述方法產生。在雜交瘤方法中，通常使用免疫劑對倉鼠、小鼠或其他適當宿主動物實施免疫以誘發淋巴球產生或能夠產生特異性結合免疫劑之抗體。或者，可在活體外對淋巴球實施免疫。

免疫劑通常包含多肽或所關注蛋白質之融合蛋白或包括該蛋白質之組合物。通常，使用末梢血淋巴球(「PBL」)(若期望人類來源之細胞)，或使用脾細胞或淋巴結細胞(若期望非人類哺乳動物來源)。然後使用適宜融合劑(例如聚乙二醇)使淋巴球與永生化細胞系融合以形成雜交瘤細胞。Goding, *MONOCLONAL ANTIBODIES: PRINCIPLES AND PRACTICE* (New York: Academic Press, 1986)，第59-103頁。永生化細胞系通常轉變哺乳動物細胞、尤其齧齒類動物、牛及人類來源之骨髓瘤細胞。通常，採用大鼠或小鼠骨髓瘤細胞系。雜交瘤細胞可培養於適宜培養基中，該適宜培養基較佳地含有一或多種抑制未融合、永生化細胞之生長或存活之物質。舉例而言，若親代

細胞缺乏酶次黃嘌呤鳥嘌呤磷酸核糖基轉移酶(HGPRT或HPRT)，則用於雜交瘤之培養基通常將包含次黃嘌呤、胺基蝶呤及胸苷(「HAT培養基」)，該等物質防止會HGPRT缺陷型細胞之生長。

較佳永生化細胞系係彼等可有效融合、支持所選抗體產生細胞穩定大量表現抗體且對諸如HAT培養基等培養基敏感之細胞。更佳永生化細胞系係鼠類骨髓瘤細胞系，其可自(例如)以下中心獲得：沙克研究院細胞分配中心(Salk Institute Cell Distribution Center)，San Diego, California及美國典型培養物保藏中心(American Type Culture Collection)，Manassas, Virginia。亦已闡述用於產生人類單株抗體之人類骨髓瘤及小鼠-人類異源骨髓瘤細胞系。Kozbor, *J. Immunol.*, 133:3001 (1984)；Brodeur等人，MONOCLONAL ANTIBODY PRODUCTION TECHNIQUES AND APPLICATIONS (Marcel Dekker, Inc.: New York, 1987，第51-63頁。

然後可分析培養雜交瘤細胞之培養基以用於確定針對多肽之單株抗體之存在。可藉由免疫沈澱或活體外結合分析(例如放射免疫分析(RIA)或酶聯免疫吸附分析(ELISA))來測定雜交瘤細胞所產生單株抗體之結合特異性。該等技術及分析已為業內已知。可(例如)藉由Munson及Pollard, *Anal. Biochem.*, 107:220 (1980)之斯卡查德分析(Scatchard analysis)測定單株抗體之結合親和力。

在鑑別期望雜交瘤細胞後，可藉由限制性稀釋程序對該等純系實施亞選殖並藉由標準方法使其生長(Goding，見上文)。用於此目的之適宜培養基包含(例如)達爾伯克氏改良伊格爾氏培養基(Dulbecco's Modified Eagle's Medium)或RPMI-1640培養基。或者，可使雜交瘤細胞作為哺乳動物體內之腹水在活體內生長。

可藉由習用免疫球蛋白純化程序(例如蛋白質A-瓊脂糖凝膠、羧基磷灰石層析、凝膠電泳、透析或親和層析)將亞純系所分泌單株抗

體與培養基或腹水分離。

單株抗體亦可藉由重組DNA方法(例如闡述於美國專利第4,816,567號中者)製得。本文所提供編碼單株抗體之DNA可易於使用習用程序分離並測序(例如藉由使用能夠與編碼鼠類抗體之重鏈及輕鏈之基因特異性結合之寡核苷酸探針)。本文所提供之雜交瘤細胞用作該DNA之較佳來源。在分離後，可將DNA置於表現載體中，然後將其轉染至原本不產生免疫球蛋白之宿主細胞(例如猿COS細胞、中國倉鼠卵巢(CHO)細胞或骨髓瘤細胞)中以在重組宿主細胞中實現單株抗體之合成。亦可藉由(例如)使用人類重鏈及輕鏈恆定結構域之編碼序列代替同源鼠類序列(美國專利第4,816,567號；Morrison等人，見上文)或藉由使非免疫球蛋白多肽之全部或部分編碼序列恆定結構域共價接合至免疫球蛋白編碼序列上來對DNA進行修飾。此一非免疫球蛋白多肽可代替本文所提供抗體之恆定結構域，或可代替本文所提供抗體之一個抗原組合位點之可變結構域以產生嵌合二價抗體。

抗體可為單價抗體。用於製備單價抗體之方法為業內所已知。舉例而言，一種方法涉及免疫球蛋白輕鏈及經修飾重鏈之重組表現。重鏈通常在Fc區中之任一點截短以防止重鏈交聯。或者，使用另一胺基酸殘基取代相關半胱胺酸殘基或使其缺失以防止交聯。

活體外方法亦適於製備單價抗體。可使用(但不限於)業內已知技術來消化抗體以產生其片段、尤其Fab片段。

人類及人類化抗體

抗體可為人類化抗體或人類抗體。非人類(例如鼠類)抗體之人類化形式係嵌合免疫球蛋白、免疫球蛋白鏈或其片段(例如Fv、Fab、Fab'、F(ab')₂或抗體之其他抗原結合子序列)，其通常含有源自非人類免疫球蛋白之最小序列。人類化抗體包含人類免疫球蛋白(接受者抗體)，其中來自接受者之CDR之殘基由來自諸如小鼠、大鼠或兔等非

人類物種(供體抗體)之CDR且具有期望特異性、親和力及能力之殘基代替。在一些情況下，人類免疫球蛋白之Fv框架殘基由相應非人類殘基代替。人類化抗體亦可包括在接受者抗體與導入之CDR或框架序列中皆未發現之殘基。一般而言，人類化抗體可包括實質上全部之至少一個且通常兩個可變結構域，其中全部或實質上全部之CDR區對應於非人類免疫球蛋白之CDR區，且全部或實質上全部之FR區係人類免疫球蛋白一致序列之FR區。人類化抗體較佳地亦包括免疫球蛋白恆定區(Fc) (通常為人類免疫球蛋白恆定區)之至少一部分。Jones等人，*Nature*, 321: 522-525 (1986)；Riechmann等人，*Nature*, 332: 323-329 (1988)；Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.*, 2:593-596 (1992)。

通常，人類化抗體中引入一或多個來自非人類來源之胺基酸殘基。該等非人類胺基酸殘基經常稱為「輸入」殘基，其通常取自「輸入」可變結構域。根據一實施例，基本上可遵循Winter及合作者之方法(Jones等人，*Nature*, 321:522-525(1986)；Riechmann等人，*Nature*, 332:323-327(1988)；Verhoeyen等人，*Science*, 239:1534-1536(1988))藉由使用齧齒類動物之CDR序列代替人類抗體之相應序列來實施人類化。因此，該等「人類化」抗體為實質上少於一個完好人類可變結構域已由來自非人類物種之相應序列所代替之抗體(美國專利第4,816,567號)。實際上，人類化抗體通常為人類抗體，其中一些CDR殘基及可能一些FR殘基由來自齧齒類動物抗體中類似位點之殘基所取代。

作為人類化之替代方式，可生成人類抗體。或者，目前可產生轉基因動物(例如小鼠)，該等轉基因動物在免疫後能夠在不產生內源性免疫球蛋白之情況下產生完整人類抗體譜。舉例而言，已闡述在嵌合及種系突變體小鼠中抗體重鏈接合區(JH)基因之純合缺失導致內源性抗體產生之完全抑制。將人類種系免疫球蛋白基因陣列轉移至該等

種系突變體小鼠中可在受到抗原攻擊後產生人類抗體。例如參見 Jakobovits 等人，*PNAS USA*, 90:2551 (1993)；Jakobovits 等人，*Nature*, 362:255-258 (1993)；Bruggemann 等人，*Year in Immunol.*, 7:33 (1993)；美國專利第 5,545,806 號、第 5,569,825 號、第 5,591,669 號、第 5,545,807 號及 WO 97/17852。或者，可藉由將人類免疫球蛋白基因座引入轉基因動物(例如內源性免疫球蛋白基因已部分地或完全鈍化之小鼠)中來製備人類抗體。在攻擊時，觀察到產生人類抗體，其在所有態樣中非常類似於在人類中看到之情形，包含基因重排、組裝及抗體譜。此方式闡述於(例如)以下文獻中：美國專利第 5,545,807 號、第 5,545,806 號、第 5,569,825 號、第 5,625,126 號、第 5,633,425 號及第 5,661,016 號；及 Marks 等人，*Bio/Technology*, 10: 779-783 (1992)；Lonberg 等人，*Nature*, 368: 856-859 (1994)；Morrison, *Nature*, 368: 812-813 (1994)；Fishwild 等人，*Nature Biotechnology*, 14: 845-851 (1996)；Neuberger, *Nature Biotechnology*, 14: 826 (1996)；Lonberg 及 Huszar, *Intern. Rev. Immunol.*, 13: 65-93 (1995)。

或者，可使用噬菌體展示技術(McCafferty 等人，*Nature* 348: 552-553 [1990])在活體外自來自未經免疫供體之免疫球蛋白可變(V)結構域基因譜產生人類抗體及抗體片段。根據此技術之一實施例，將抗體 V 結構域序列在框架內選殖至絲狀噬菌體(例如 M13 或 fd)之主要或次要衣殼蛋白基因中，並在噬菌體顆粒表面上展示為功能性抗體片段。噬菌體展示可以各種形式實施，例如如下文實例部分中所闡述或如(例如) Johnson, Kevin S. 及 Chiswell, David J., *Current Opinion in Structural Biology* 3:564-571 (1993)中所綜述。V 基因區段之若干來源可用於噬菌體展示。Clackson 等人，*Nature*, 352:624-628 (1991)自源自經免疫小鼠脾之 V 基因之小型隨機組合文庫分離出抗噁唑酮抗體之多樣陣列。可構築來自未經免疫之人類供體之 V 基因譜，且可遵循

Marks等人，*J. Mol. Biol.* 222:581-597 (1991)或Griffith等人，*EMBO J.* 12:725-734 (1993)所闡述之技術基本上分離出針對抗原多樣陣列(包含自身抗原)之抗體。例如參見美國專利第5,565,332號及第5,573,905號。

如上文所論述，亦可藉由活體外活化之B細胞來生成人類抗體(參見美國專利5,567,610及5,229,275)。

亦可使用業內已知之各種技術(包含噬菌體展示文庫)來產生人類抗體。Hoogenboom及Winter，*J. Mol. Biol.*, 227: 381 (1991)；Marks等人，*J. Mol. Biol.*, 222: 581 (1991)。Cole等人及Boerner等人之技術亦可用於製備人類單株抗體。Cole等人，*Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss，第77頁(1985)及Boerner等人，*J. Immunol.*, 147(1): 86-95 (1991)。

多特異性抗體

多特異性抗體係對兩種或更多種不同抗原具有結合特異性之單株、較佳地人類或人類化抗體(舉例而言，雙特異性抗體對至少兩種抗原具有結合特異性)。舉例而言，一種結合特異性可針對5~1蛋白，另一種可針對任一其他抗原。根據一較佳實施例，另一抗原係細胞表面蛋白或受體或受體亞單位。舉例而言，細胞表面蛋白可為天然殺傷(NK)細胞受體。因此，根據一實施例，本發明之雙特異性抗體可結合VEGFR2及(例如)第二細胞表面受體。

用於製備雙特異性抗體之適宜方法在業內已眾所周知。舉例而言，雙特異性抗體之重組產生係基於兩個免疫球蛋白重鏈/輕鏈對之共表現，其中兩條重鏈具有不同特異性。Milstein及Cuello，*Nature*, 305:537-539 (1983)。由於免疫球蛋白重鏈及輕鏈係隨機配合，因此此等雜交瘤(四源雜交瘤(quadroma))可產生10種不同抗體分子之潛在混合物，其中僅一種具有正確之雙特異性結構。通常藉由親和層析步

驟來純化正確分子。類似程序揭示於 WO 93/08829 及 Traunecker 等人，*EMBO*, 10: 3655-3659 (1991) 中。

具有期望結合特異性(抗體-抗原組合位點)之抗體可變結構域可融合至免疫球蛋白恆定結構域序列。融合體較佳地具有免疫球蛋白重鏈恆定結構域，該結構域包括鉸鏈區、CH2區及CH3區之至少一部分。較佳使至少一個融合體中存在含有輕鏈結合所需位點之第一重鏈恆定區(CH 1)。將編碼免疫球蛋白重鏈融合體及(若需要)免疫球蛋白輕鏈之DNA插入單獨表現載體中，並將其共轉染至適宜宿主有機體中。關於生成雙特異性抗體之其他細節，例如參見 Suresh 等人，*Methods in Enzymology*, 121: 210 (1986)。

亦已闡述各種用於製備雙特異性抗體片段且直接自重組細胞培養物分離之技術。舉例而言，已使用白胺酸拉鍊產生雙特異性抗體。Kostelny 等人，*J. Immunol.*, 148(5):1547-1553 (1992)。藉由基因融合使來自 Fos 及 Jun 蛋白質之白胺酸拉鍊肽連接至兩個不同抗體之 Fab' 部分。在鉸鏈區還原抗體同二聚體以形成單體且然後再氧化以形成抗體異二聚體。此方法亦可用於產生抗體同二聚體。由 Hollinger 等人，*PNAS USA*, 90:6444-6448 (1993) 闡述之「雙價抗體」技術提供了用於製備雙特異性抗體片段之替代機制。該等片段包括藉由連接體連結至 VL 之 VH，連接體極短以容許在同一鏈上之兩個結構域之間進行配對。因此，迫使一個片段之 VH 及 VL 結構域與另一片段之互補 VL 及 VH 結構域進行配對，由此形成兩個抗原結合位點。亦已報導用於藉由使用單鏈 Fv (sFv) 二聚體來製備雙特異性抗體片段之另一策略。參見 Gruber 等人，*J. Immunol.*, 152:5368 (1994)。

涵蓋具有兩個以上化合價之抗體。舉例而言，可製備三特異性抗體。Tutt 等人，*J. Immunol.* 147:60 (1991)。

異源性偶聯抗體

異源偶聯抗體係由兩種共價接合之抗體構成。舉例而言，已提出該等抗體以將免疫系統細胞靶向不受歡迎的細胞(美國專利第4,676,980號)且用於治療HIV感染。WO 91/00360；WO 92/200373；EP 03089。預計可在活體外使用合成蛋白質化學中之已知方法(包含涉及交聯劑者)來製備抗體。舉例而言，可使用二硫化物交換反應或藉由形成硫醚鍵來構築免疫毒素。用於此目的之適宜試劑之實例包含亞胺基硫醇鹽及4-巰基丁醯亞胺甲酯及揭示於(例如)美國專利第4,676,980號中者。

效應物功能改造

可期望針對效應物功能來修飾本文所提供之抗體以增強(例如)抗體治療與過度血管生成有關之病理學病狀(例如癌症(例如結腸癌、結腸直腸癌、胃癌、胃食管癌、膀胱癌、肺癌及實體腫瘤)或眼部疾病(例如闡述於本文其他處者))之有效性。舉例而言，可將半胱胺酸殘基引入Fc區中，由此使得在此區中形成鏈間二硫鍵。由此生成之同二聚體抗體可具有改良之內化能力及/或增加之補體介導之細胞殺滅及抗體依賴性細胞細胞毒性(ADCC)。參見Caron等人，*J. Exp. Med.*, 176: 1191-1195 (1992)及Shapes, *J. Immunol.*, 148:2918-2922 (1992)。具有增強之抗腫瘤活性之同二聚體抗體亦可使用異雙官能交聯劑製得，如Wolff等人，*Cancer Research*, 53: 2560-2565 (1993)中所闡述。或者，可改造具有雙重Fc區之抗體且可由此具有增強之補體裂解及ADCC能力。參見Stevenson等人，*Anti-Cancer Drug Design*: 219-230 (1989)。

可對Fc區序列作出突變或改變以改良FcR結合(例如FcγR、FcRn)。根據一實施例，與天然IgG或親代抗體相比，本發明抗體具有至少一種選自由以下組成之群之改變之效應物功能：ADCC、CDC及改良之FcRn結合。若干有用特異性突變之實例闡述於(例如) Shields, RL 等人，(2001) *JBC* 276(6)6591-6604；Presta, L.G., (2002)

Biochemical Society Transactions 30(4):487-490；及WO 00/42072中。

根據一實施例，Fc受體突變係在Fc區中至少一個選自由以下組成之群之位置處之取代：238、239、246、248、249、252、254、255、256、258、265、267、268、269、270、272、276、278、280、283、285、286、289、290、292、293、294、295、296、298、301、303、305、307、309、312、315、320、322、324、326、327、329、330、331、332、333、334、335、337、338、340、360、373、376、378、382、388、389、398、414、416、419、430、434、435、437、438或439，其中Fc區中之殘基編號係根據EU編號系統。在一些實施例中，Fc受體突變係D265A取代。在一些實施例中，Fc受體突變係N297 A取代。其他適宜突變陳述於美國專利第7,332,581號中。

在某些實施例中，本文所提供之抗VEGFR2抗體係無岩藻糖基化(亦即「無岩藻糖基化抗VEGFR2抗體」或「非岩藻糖基化抗VEGFR2抗體」)。「無岩藻糖基化抗體」或「非岩藻糖基化抗體」係指IgG1或IgG3同型之抗體，其在Fc區中之Asn297處具有改變之醣基化模式且具有經減低之岩藻糖殘基含量。在Asn297處發生人類IgG1或IgG3之糖基化作為核心岩藻糖基化二支鏈複雜寡糖糖基化，其末端為最多2個Gal殘基。端視末端Gal殘基之量，將該等結構指定為G0、G1 (a1,6或a1,3)或G2聚糖殘基(Raju, T.S., *BioProcess Int.* 1 (2003) 44-53)。抗體Fc部分之CHO型糖基化闡述於(例如) Routier, F.H., *Glycoconjugate J.* 14 (1997) 201-207中。在未經糖基修飾之CHO宿主細胞中重組表現之抗體通常在Asn297處以至少85%之量經岩藻糖基化。在某些實施例中，本文所提供之無岩藻糖基化抗VEGFR2抗體具有經減低之岩藻糖殘基含量。在某些實施例中，本文所提供之無岩藻糖基化抗VEGFR2抗體在其醣基化模式中並無岩藻糖。通常已知，抗體中之典型醣基化殘基位置係在位置297 (根據EU編號系統)處之天門冬醯胺

(「Asn297」)。

因此，在某些實施例中，本文所提供之無岩藻糖基化抗VEGFR2抗體包括已發生改變或以其他方式有所變化以便其在其醣基化模式中具有經減低之岩藻糖殘基含量或並無岩藻糖之Fc序列。在某些實施例中，本文所提供之抗VEGFR2抗體包括在位置297（根據EU編號系統）處具有改變之Fc序列。

在某些實施例中，藉由能夠產生低岩藻糖基化或無岩藻糖基化聚糖之宿主細胞來產生本文所提供之無岩藻糖基化抗VEGFR2抗體。已確定可產生無岩藻糖基化抗體之穩定哺乳動物宿主細胞系且闡述於(例如)以下文獻中：Yamane-Ohnuki等人(2004) *Biotechnol Bioeng.* 87, 614-622；Mori等人(2004) *Biotechnol Bioeng.* 88, 901-908；Kanda等人(2006) *Biotechnol Bioeng.* 94, 680-688；Kanda (2007) *J Biotechnol.* 130, 300-310；Imai-Nishiya (2007) *BMC Biotechnol* 7, 84；Yamane-Ohnuki及Sato (2009) *mAbs* 1, 230-236。在某些實施例中，在經改造以表現b(1,4)-N-乙醯基葡萄糖胺基轉移酶III活性之經糖基修飾之宿主細胞中表現本文所提供之無岩藻糖基化抗VEGFR2抗體。在某些實施例中，在已降低或消除1,6-岩藻糖基轉移酶活性之經糖基修飾之宿主細胞中表現本文所提供之無岩藻糖基化抗VEGFR2抗體。關於產生經糖基修飾之宿主細胞之細節，參見(例如) US 6,946,292。可(例如)藉由發酵條件(例如發酵時間)或藉由組合至少兩種具有不同岩藻糖基化量之抗體來預先測定抗體岩藻糖基化之量。該等無岩藻糖基化抗體及各別糖基改造方法闡述於以下文獻中：WO 2005/044859、WO 2004/065540、WO 2007/031875、Umana等人，*Nature Biotechnol.* 17 (1999) 176-180、WO 99/154342、WO 2005/018572、WO 2006/116260、WO 2006/114700、WO 2005/011735、WO 2005/027966、WO 97/028267、US 2006/0134709、US

2005/0054048 、 US 2005/0152894 、 WO 2003/035835 、 WO 2000/061739 。該等糖基改造抗體具有增加之ADCC 。其他得到本發明之無岩藻糖基化抗體之糖基改造方法闡述於(例如)以下文獻中： Niwa, R.等人， J. Immunol. Methods 306 (2005) 151-160 ； Shinkawa, T. 等人， J. Biol. Chem, 278 (2003) 3466-3473 ； WO 03/055993 或 US 2005/0249722 。

在某些實施例中，本文所提供之無岩藻糖基化抗VEGFR2抗體係使用活體外技術產生。在某些實施例中，以化學方式來合成本文所提供之無岩藻糖基化抗VEGFR2抗體。(例如參見Yamamoto等人(2008) *JACS* 130, 501-510，其闡述非岩藻糖基化形式之單核球趨化蛋白3 (MCP-3)之化學合成)。在某些實施例中，藉由使用岩藻糖苷酶去除IgG上之岩藻糖殘基來產生本文所提供之無岩藻糖基化抗VEGFR2抗體。(例如參見Yazawa等人(1986) *Biochem Biophys Res Commun.*136, 563-569)。

在某些實施例中，與岩藻糖基化抗VEGFR2抗體相比，本文所提供之無岩藻糖基化抗VEGFR2抗體具有改良之抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)效應物功能，如藉由熟習此項技術者所熟知之分析所證實。例如參見Suzuki等人(2007) *Clin Cancer Res* 13, 1875。舉例而言，在某些實施例中，本文所闡述之無岩藻糖基化抗VEGFR2抗體之ADCC效應物功能活性為岩藻糖基化抗VEGFR2抗體之ADCC效應物功能活性的至少約140%、至少約150%、至少約160%、至少約170%、至少約180%、至少約190%、至少約190%、至少約200%、至少約210%、至少約220%、至少約230%、至少約240%、至少約250%、至少約260%、至少約270%、至少約280%、至少約290%或至少約300% (包含該等值之間之任一範圍)。在某些實施例中，本文所闡述之抗VEGFR2抗體之ADCC效應物功能活性為岩藻糖基化抗

VEGFR2抗體之ADCC效應物功能活性之約300%以上，包含岩藻糖基化抗VEGFR2抗體之ADCC效應物功能活性之至少約350%、至少約360%、至少約370%、至少約380%、至少約390%、至少約400%、至少約410%、至少約420%、至少約430%、至少約440%、至少約450%、至少約460%、至少約470%、至少約480%、至少約490%、至少約500%、至少約510%、至少約520%、至少約530%、至少約540%、至少約550%、至少約560%、至少約570%、至少約580%、至少約590%或至少約600% (包含該等值之間之任一範圍)。

免疫偶聯物

本發明亦係關於包括偶聯至細胞毒性劑之抗體之免疫偶聯物，細胞毒性劑係(例如)化學治療劑、毒素(例如細菌、真菌、植物或動物來源之酶活性毒素或其片段)或放射性同位素(亦即放射性偶聯物)。

可使用之酶活性毒素及其片段包含白喉A鏈、白喉毒素之非結合活性片段、外毒素A鏈(來自綠膿桿菌(*Pseudomonas aeruginosa*))、蓖麻毒素A鏈、相思豆毒蛋白A鏈、葫蘆根毒素A鏈、 α -八疊球菌、油桐(*Aleurites fordii*)蛋白、石竹素蛋白、美洲商陸(*Phytolacca americana*)蛋白(PAPI、PAPII及PAP-S)、苦瓜(*Momordica charantia*)抑制劑、瀉果素、巴豆毒素、皂草(*Saponaire officinalis*)抑制劑、白樹毒素、絲裂吉菌素(mitogellin)、侷限麴菌素(restrictocin)、酚黴素(phenomycin)、依諾黴素(enomycin)及單端孢黴烯族毒素(tricothecenes)。各種放射性核種可用於產生放射性偶聯抗體。實例包含 ^{212}Bi 、 ^{131}I 、 ^{131}In 、 ^{90}Y 及 ^{186}Re 。可用於生成該等免疫偶聯物之實例性化學治療劑包含闡述於本文其他處者。

抗體與細胞毒性劑之偶聯物係使用多種雙官能蛋白質偶合劑製得，該等多種雙官能蛋白質偶合劑係(例如) 3-(2-吡啶基二硫基)丙酸N-琥珀醯亞胺酯(SPDP)、亞胺基硫雜環戊烷(IT)、亞胺基酯之雙官能

衍生物(例如己二醯亞胺二甲酯HCl)、活性酯(例如辛二酸二琥珀醯亞胺酯)、醛(例如戊二醛)、雙-疊氮基化合物(例如雙(對-重氮苯甲醯基)己二胺)、雙-重氮衍生物(例如雙-(對-重氮苯甲醯基)-乙二胺)、二異氰酸酯(例如甲苯2,6-二異氰酸酯)及雙-活性氟化合物(例如1,5-二氟-2,4-二硝基苯)。舉例而言，蓖麻毒素免疫毒素可如 Vitetta 等人，*Science*, 238: 1098 (1987)中所闡述來製備。經碳-14標記之1-異硫氰基苄基-3-甲基二仲乙基三胺五乙酸(MX-DTPA)係用於放射性核苷酸與抗體偶聯之實例性螯合劑。參見 WO94/11026。

在另一實施例中，抗體可偶聯至「受體」(例如鏈黴抗生物素蛋白)以用於腫瘤預靶向，其中將抗體-受體偶聯物投與患者，隨後使用清除劑自循環去除未結合偶聯物且然後投與偶聯至細胞毒性劑(例如放射性核苷酸)之「配體」(例如抗生物素蛋白)。

共價修飾

抗VEGFR2抗體及其片段之共價修飾包含於本發明範圍內。一類共價修飾包含使多肽之靶定胺基酸殘基與能夠與所選側鏈或多肽之N-或C-末端殘基發生反應之有機衍生劑進行反應。使用雙官能劑進行衍生可用於將多肽交聯至水溶性載體基質或表面中以用於純化抗體之方法中，且反之亦然。常用交聯劑包含(例如) 1,1-雙(重氮乙醯基)-2-苯基乙烷、戊二醛、N-羥基琥珀醯亞胺酯(舉例而言，與4-疊氮基水楊酸形成之酯、同雙官能亞胺酸酯(包含二琥珀醯亞胺基酯，例如3,3'-二硫代雙(琥珀醯亞胺基-丙酸酯)))、雙官能馬來醯亞胺(例如雙-N-馬來醯亞胺基-1,8-辛烷)及諸如甲基-3-[(p-疊氮基苯基)-二硫代]丙醯亞胺酸酯等試劑。

其他修飾包含麩醯胺醯基及天門冬醯胺醯基殘基分別至相應麩胺醯基及天門冬胺醯基殘基之去醯胺、脯胺酸及離胺酸之羥基化、絲胺醯基或蘇胺醯基殘基之羥基之磷酸化、離胺酸、精胺酸及組胺酸側

鏈之 α -胺基之甲基化 [T.E. Creighton, *Proteins: Structure and Molecular Properties*, W.H. Freeman & Co., San Francisco, 第79-86頁 (1983)]、N-末端胺之乙醯化及任一C-末端羧基之醯胺化。

其他修飾包含毒素至拮抗劑之偶聯，例如美登素(maytansine)及類美登素(maytansinoid)、卡奇黴素(calicheamicin)及其他細胞毒性劑。

另一類型之多肽共價修飾包括以美國專利第4,640,835號、第4,496,689號、第4,301,144號、第4,670,417號、第4,791,192號或第4,179,337號中所陳述之方式使多肽連接至許多非蛋白質性聚合物中之一者(例如聚乙二醇(PEG)、聚丙二醇或聚氧化烯)。

嵌合分子

若有利，則亦可以形成嵌合分子之方式來修飾本發明之抗VEGFR2抗體(或其片段)，該嵌合分子包括融合至另一多肽之多肽、異源多肽或胺基酸序列(例如免疫黏附素或肽體)。

在一實施例中，此一嵌合分子包括多肽與蛋白質轉導結構域之融合體，該蛋白質轉導結構域靶向多肽以用於遞送至各種組織且更特定而言使用(例如)人類免疫缺失病毒TAT蛋白之蛋白質轉導結構域穿過腦血障壁(Schwarze等人，1999, *Science* 285: 1569-72)。

在另一實施例中，此一嵌合分子包括多肽與標籤多肽之融合體，該標籤多肽提供抗標籤抗體可選擇性結合之表位。表位標籤通常置於多肽之胺基-或羧基末端處。可使用針對標籤多肽之抗體來檢測多肽之該等加注表位標籤之形式的存在。同樣，表位標籤之提供使得能夠易於藉由親和純化使用抗標籤抗體或另一類型結合表位標籤之親和力基質來純化多肽。各種標籤多肽及其相應抗體為業內所已知。實例包含聚組胺酸(聚-His)或聚-組胺酸-甘胺酸(聚-His-gly)標籤；流感HA標籤多肽及其抗體12CA5 [Field等人，*Mol. Cell. Biol.*, 8:2159-

2165 (1988)]；c-myc標籤及其8F9、3C7、6E10、G4、B7及9E10抗體[Evan等人，Molecular and Cellular Biology, 5:3610-3616 (1985)]；及單純皰疹病毒(Herpes Simplex virus)糖蛋白D (gD)標籤及其抗體[Paborsky等人，Protein Engineering, 3 (6):547-553 (1990)]。其他標籤多肽包含Flag-肽[Hopp等人，BioTechnology, 6:1204-1210 (1988)]；KT3表位肽[Martin等人，Science, 255:192-194 (1992)]； α -微管蛋白表位肽[Skinner等人，J. Biol. Chem., 266:15163-15166 (1991)]；及T7基因10蛋白肽標籤[Lutz-Freyermuth等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:6393-6397 (1990)]。

在一替代實施例中，嵌合分子可包括多肽與免疫球蛋白或免疫球蛋白之特定區域之融合體。對於二價形式之嵌合分子(例如「免疫黏附素」)而言，此一融合可為融合至IgG分子之Fc區域。本發明之Ig融合體包含含有大約或僅人類之殘基94-243、殘基33-53或殘基33-52代替Ig分子內之至少一個可變區之多肽。在一尤佳實施例中，免疫球蛋白融合體包含IgG1分子之鉸鏈、CH2及CH3或鉸鏈、CH1、CH2及CH3區。為產生免疫球蛋白融合體，亦參見1995年6月27日發行之美國專利第5,428,130號。

免疫脂質體

亦可將本文所揭示之抗體調配為免疫脂質體。藉由業內已知方法(例如闡述於Epstein等人，PNAS USA, 82: 3688 (1985)；Hwang等人，PNAS USA, 77:4030 (1980)；及美國專利第4,485,045號及第4,544,545號中者)來製備含有抗體之脂質體。具有增強之循環時間之脂質體揭示於美國專利第5,013,556號中。

可藉由反相蒸發方法使用包括磷酯醯膽鹼、膽固醇及PEG源磷脂醯乙醇胺(PEG-PE)之脂質組合物來生成尤其有用之脂質體。經由具有界定孔徑之過濾器擠出脂質體以獲得具有期望直徑之脂質體。本發明

抗體之Fab'片段可經由二硫化物互換反應偶聯至脂質體，如Martinet等人，*J. Biol. Chem.*, 257: 286-288 (1982)中所闡述。抗腫瘤劑、生長抑制劑或化學治療劑(例如多柔比星(doxorubicin))視情況亦含於脂質體內。參見Gabizon等人，*J. National Cancer Inst.*, 81(19): 1484 (1989)。

使用抗血管內皮生長因子受體2 (VEGFR2) 抗體之治療

在本發明之另一態樣中，使用抗VEGFR2抗體抑制血管生成。血管內皮之VEGFR刺激與血管生成疾病及腫瘤之血管形成有關。因此，本文所提供之人類抗VEGFR2抗體可有效治療患有血管化腫瘤或贅瘤或血管生成疾病之個體。該等腫瘤及贅瘤包含(例如)惡性腫瘤及贅瘤(例如母細胞瘤、癌瘤或肉瘤)及高度血管性腫瘤及贅瘤。可藉由本發明所提供方法治療之癌症包含(例如)腦癌、泌尿生殖道癌、淋巴管系統癌、胃癌、腎臟癌(腎癌)、結腸癌、喉癌及肺癌及骨癌。非限制性實例進一步包含表皮樣腫瘤、鱗狀腫瘤(例如頭頸腫瘤)、腹膜癌、結腸直腸腫瘤、結腸直腸癌、直腸腫瘤、直腸癌、前列腺腫瘤、乳房腫瘤、子宮頸之持續性、復發性或轉移性癌瘤、肺腫瘤(包含肺腺癌及小細胞與非小細胞肺腫瘤)、胰臟腫瘤、甲狀腺腫瘤、輸卵管腫瘤、卵巢腫瘤(例如復發性上皮卵巢癌)及肝腫瘤。該方法亦可用於治療血管化皮膚癌(包含鱗狀細胞癌瘤、基底細胞癌瘤及可藉由阻抑惡性角質細胞(例如人類惡性角質細胞)之生長來治療之皮膚癌)。可治療之其他癌症包含卡波西氏肉瘤(Kaposi's sarcoma)、CNS贅瘤(神經胚細胞瘤、毛細血管血管母細胞瘤、腦脊髓膜瘤及腦轉移)、黑色素瘤、胃腸及腎細胞癌瘤及肉瘤、橫紋肌肉瘤、神經膠母細胞瘤(包含多形性神經膠母細胞瘤)及平滑肌肉瘤。

本發明之另一態樣包含治療或預防特徵在於涉及(例如)血管形成及/或發炎之過度血管生成之病理學病狀之方法，該等病理學病狀係

(例如)動脈粥樣硬化、類風濕性關節炎 (RA)、新生血管青光眼、增殖性視網膜病變(包含增殖性糖尿病視網膜病變)、黃斑退化、血管瘤、血管纖維瘤及牛皮癬。非贅瘤性血管生成疾病之其他非限制性實例係早產兒視網膜病變(晶狀體後纖維增生)、角膜移植物排斥、胰島素依賴性糖尿病、多發性硬化、重症肌無力、克隆氏病(Crohn's disease)、自體免疫腎炎、原發性膽汁性肝硬化、急性胰臟炎、同種異體移植物排斥、過敏性發炎、接觸性皮膚炎及遲發性過敏性反應、發炎性腸病、敗血性休克、骨質疏鬆症、骨關節炎、由神經元發炎誘導之認知缺陷、奧斯勒-韋伯症候群(Osler-Weber syndrome)、再狹窄及真菌、寄生蟲及病毒感染(包含巨細胞病毒感染)。在某些實施例中，特徵在於過度血管生成之病理學病狀係眼部疾病。在某些實施例中，眼部疾病係選自由以下組成之群：視網膜病變、老年性黃斑退化(例如濕型AMD)、糖尿病黃斑水腫、皮膚發紅、源自牛皮癬之眼色素層炎、發炎性腎病、溶血性尿毒癥候群、糖尿病腎病變(例如增殖性糖尿病視網膜病變)、發炎性腸病、慢性發炎、慢性視網膜脫落、慢性眼色素層炎、慢性玻璃體炎、角膜移植物排斥、角膜新血管形成、角膜移植物新血管形成、近視、眼部新生血管疾病、佩吉特氏病(Pagets disease)、類天皰瘡、多發性動脈炎、雷射後放射狀角膜切開術、視網膜新血管形成、薛格連氏症候群(Sogrens syndrome)、潰瘍性結腸炎、移植物排斥、肺發炎、腎病症候群、水腫及新生血管青光眼。在某些實施例中，本發明提供用以製造用於治療眼部疾病(例如彼闡述於上文中者)之藥劑之抗VEGFR2抗體(或其片段)。在某些實施例中，本發明提供用於治療個體之眼部疾病(例如闡述於上文中者)之抗VEGFR2抗體(或其片段)。在某些實施例中，擬治療個體係哺乳動物(例如人類、非人類靈長類動物、大鼠、小鼠、牛、馬、豬、綿羊、山羊、狗、貓等)。在某些實施例中，個體係人類。在某些實施

例中，個體係臨床患者、臨床試驗志願者、實驗動物等。在某些實施例中，懷疑個體患有眼部疾病(例如闡述於上文中者)或處於患有該疾病之風險下。在某些實施例中，個體診斷有眼部疾病(例如闡述於上文中者)。

可將本文所提供之抗VEGFR2抗體(或其片段)及/或組合物投與個體(例如哺乳動物，例如人類)以治療涉及異常VEGFR2活性之疾病及病症，該疾病及病症包含(例如)癌症(例如結腸癌、結腸直腸癌、胃癌、胃食管癌、膀胱癌、肺癌及實體腫瘤)或特徵在於過度血管生成之病理學病狀(例如闡述於上文中者)。在某些實施例中，本發明提供用以製造用於治療個體之癌症(例如結腸癌、結腸直腸癌、胃癌、胃食管癌、膀胱癌、肺癌及實體腫瘤)或特徵在於過度血管生成之病理學病狀(例如闡述於上文中者)之藥劑之抗VEGFR2抗體(或其片段)。在某些實施例中，本發明提供用於治療個體之癌症(例如結腸癌、結腸直腸癌、胃癌、胃食管癌、膀胱癌、肺癌及實體腫瘤)或特徵在於過度血管生成之病理學病狀(例如闡述於上文中者)之抗VEGFR2抗體(或其片段)。在某些實施例中，擬治療個體係哺乳動物(例如人類、非人類靈長類動物、大鼠、小鼠、牛、馬、豬、綿羊、山羊、狗、貓等)。在某些實施例中，個體係人類。在某些實施例中，個體係臨床患者、臨床試驗志願者、實驗動物等。在某些實施例中，懷疑個體患有癌症(例如結腸癌、結腸直腸癌、胃癌、胃食管癌、膀胱癌、肺癌及實體腫瘤)或特徵在於過度血管生成之病理學病狀(例如闡述於上文中者)或處於患有該等疾病之風險下。在某些實施例中，個體診斷有癌症(例如結腸癌、結腸直腸癌、胃癌、胃食管癌、膀胱癌、肺癌及實體腫瘤)或特徵在於過度血管生成之病理學病狀(例如闡述於上文中者)。

業內已知用於癌症(例如結腸癌、結腸直腸癌、胃癌、胃食管

癌、膀胱癌、肺癌及實體腫瘤)或特徵在於過度血管生成之病理學病狀(例如闡述於上文中者)之許多診斷方法及彼等疾病之臨床描述。該等方法包含但不限於(例如)免疫組織化學、PCR、螢光原位雜交(FISH)。關於用於異常VEGFR2活性或表現之診斷方法之其他細節闡述於(例如)以下文獻中：Gupta等人(2009) *Mod Pathol.* 22(1): 128-133；Lopez-Rios等人(2013) *J Clin Pathol.* 66(5): 381-385；Ellison等人(2013) *J Clin Pathol* 66 (2): 79-89；及Guha等人(2013) *PLoS ONE* 8(6): e67782。若個體係用於使用本文所闡述之抗VEGFR2抗體進行治療之候選者，則業內之臨床醫師可易於(例如)藉由使用臨床測試、體檢及醫學/家族史來進行測定。

可藉由任一適宜途徑(包含(例如)靜脈內、肌內或皮下途徑)進行投與。在一些實施例中，組合投與本文所提供之抗VEGFR2抗體(或其片段)及/或組合物與第二、第三或第四藥劑(包含(例如)抗瘤劑、生長抑制劑、細胞毒性劑或化學治療劑)以治療涉及異常VEGFR2活性之疾病或病症。該等藥劑包含(例如)多西他賽(docetaxel)、吉非替尼(gefitinib)、FOLFIRI (伊立替康(irinotecan)、5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil)及甲醯四氫葉酸(leucovorin))、伊立替康(irinotecan)、順鉑(cisplatin)、卡鉑(carboplatin)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)、貝伐珠單抗(bevacizumab) (抗VEGF抗體)、FOLFOX-4 (輸注氟尿嘧啶、甲醯四氫葉酸及奧沙利鉑(oxaliplatin))、阿法替尼(afatinib)、吉西他濱(gemcitabine)、卡培他濱(capecitabine)、培美曲塞(pemetrexed)、提瓦替尼(tivantinib)、依維莫司(everolimus)、CpG-ODN、雷帕黴素(rapamycin)、雷利寶邁(lenalidomide)、威羅菲尼(vemurafenib)、內皮抑素(endostatin)、拉帕替尼(lapatinib)、PX-866、Imprime PGG及厄洛替尼(erlotinib)。在一些實施例中，抗VEGFR2抗體(或其片段)偶聯至額外藥劑。

端視擬治療適應症及熟習該領域之醫師所熟習與投藥相關之因素，以有效治療該適應症同時最小化毒性及副效應之劑量來投與本文所提供之抗體。為治療癌症(例如結腸癌、結腸直腸癌、胃癌、胃食管癌、膀胱癌、肺癌及實體腫瘤)或特徵在於過度血管生成之病理學病狀(例如闡述於本文其他處者)，典型劑量可(例如)在0.001 μg 至1000 μg 範圍內；然而，低於或高於此實例性範圍之劑量在本發明範圍內。日劑量可為約0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至約100 mg/kg 總體重(例如約5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約1 mg/kg 、約50 mg/kg 或由任兩個前述值界定之範圍)、較佳地約0.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至約10 mg/kg 總體重(例如約0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約750 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約1.5 mg/kg 、約5 mg/kg 或由任兩個前述值界定之範圍)、更佳地約1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至1 mg/kg 總體重(例如約3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約75 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約900 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或由任兩個前述值界定之範圍)及甚至更佳地約0.5 mg/kg 至10 mg/kg 體重/天(例如約2 mg/kg 、約4 mg/kg 、約7 mg/kg 、約9 mg/kg 或由任兩個前述值界定之範圍)。如上所述，可藉由週期性評價所治療患者來監測治療或預防效能。對於經數天或更長時間之重複投與，端視病狀，重複治療直至疾病症狀出現期望阻抑為止。然而，其他劑量方案可能有用且在本發明範圍內。可藉由單次濃注投與組合物、藉由多次濃注投與組合物或藉由連續輸注投與組合物來遞送期望劑量。

可每天一次、兩次、三次或四次來投與包括抗VEGFR2抗體之醫藥組合物。該等組合物亦可以小於日頻率之頻率進行投與，例如每週六次、每週五次、每週四次、每週三次、每週兩次、每週一次、每兩週一次、每三週一次、每月一次、每兩個月一次、每三個月一次或每六個月一次。該等組合物亦可以持續釋放調配物(例如以植入體形式)來投與，該投與形式逐漸釋放組合物以用於一定時間段中，且容許組

合物以較小頻率(例如每月一次、每2-6個月一次、每年一次或甚至單一投與)投與。可藉由注射投與持續釋放裝置(例如糰粒、奈米顆粒、微粒、奈米球、微球體及諸如此類)。

抗體(或其抗原結合片段)可以單一日劑量投與，或總日劑量可以每天兩次、三次或四次之分開劑量投與。該等組合物亦可以小於日頻率之頻率進行投與，例如每週六次、每週五次、每週四次、每週三次、每週兩次、每週一次、每兩週一次、每三週一次、每月一次、每兩個月一次、每三個月一次或每六個月一次。該等組合物亦可以持續釋放調配物(例如以植入體形式)來投與，該投與形式逐漸釋放組合物以用於一定時間段中，且容許組合物以較小頻率(例如每月一次、每2-6個月一次、每年一次或甚至單一投與)投與。可藉由注射投與持續釋放裝置(例如糰粒、奈米顆粒、微粒、奈米球、微球體及諸如此類)或以手術方式植入不同位置中。

藉由(例如但不限於)腫瘤消退、腫瘤重量或大小收縮、至進展時間、存活持續時間、無進展存活、總反應率、反應持續時間、生活品質、蛋白表現及/或活性來評估癌症治療。可採用測定療法效能之方式，包含(例如)經由放射學成像來量測反應。

在一些實施例中，將治療效能量測為腫瘤生長抑制百分比(TGI %)，其係使用方程式 $100 - (T/C \times 100)$ 來計算，其中T係經治療腫瘤之平均相對腫瘤體積，且C係未治療腫瘤之平均相對腫瘤體積。在某些實施例中，TGI %為約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%或大於95% (包含該等值之間之任一範圍)。在某些實施例中，抗VEGFR2之TGI %相同於或大於1121B (參見US 2009/0306348)或1121N (參見US 7,498,414)之TGI %，例如大於1121B (參見US 2009/0306348)或1121N (參見US 7,498,414)之TGI %約0.7倍、0.8倍、

0.9倍、1.0倍、1.1倍、約1.2倍、約1.3倍、約1.4倍、約1.5倍、約1.6倍、約1.7倍、約1.8倍、約1.9倍、約2倍、約2.1倍、約2.2倍、約2.3倍、約2.4倍、約2.5倍、約2.6倍、約2.7倍或大於約2.7倍。

醫藥調配物

可使用適宜載劑或賦形劑調配抗VEGFR2抗體(或其片段)，從而其適於投與。抗體之適宜調配物係藉由混合具有期望純度之抗體(或其片段)與醫藥上可接受之可選載劑、賦形劑或穩定劑(*Remington's Pharmaceutical Sciences*，第16版，Osol, A.編輯(1980))以凍乾調配物或水溶液形式獲得。可接受之載劑、賦形劑或穩定劑在所採用劑量及濃度下對接受者無毒性，且包含緩衝劑，例如磷酸鹽、檸檬酸鹽及其他有機酸；抗氧化劑，包含抗壞血酸及甲硫胺酸；防腐劑(例如十八烷基二甲基苄基氯化銨；氯化六甲雙銨；苯紫氯銨、苄索氯銨；苯酚、丁醇或苄醇；對羥基苯甲酸烷基酯，例如對羥基苯甲酸甲酯或對羥基苯甲酸丙酯；兒茶酚；間苯二酚；環己醇；3-戊醇；及間甲酚)；低分子量(小於約10個殘基)多肽；蛋白質，例如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，例如聚乙烷基吡咯啉酮；胺基酸，例如甘胺酸、麩醯胺酸、天門冬醯胺、組胺酸、精胺酸或離胺酸；單糖、二糖及其他碳水化合物，包含葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合劑，例如EDTA；糖，例如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨醇；鹽形成抗衡離子，例如鈉；金屬錯合物(例如Zn-蛋白質錯合物)；及/或非離子型表面活性劑，例如TWEEN™、PLURONICS™或聚乙二醇(PEG)。實例性抗體調配物闡述於W098/56418中，該案件明確以引用方式併入本文中。適於皮下投與之凍乾調配物闡述於W097/04801中。可使用適宜稀釋劑將該等凍乾調配物重構至較高蛋白質濃度且可將重構調配物經皮下投與本文擬治療之哺乳動物。

本文中之調配物亦可視需要含有一種以上用於所治療特定適應

症之活性化合物，較佳為彼此不會產生不利影響之具有互補活性者。舉例而言，可期望進一步提供抗腫瘤劑、生長抑制劑、細胞毒性劑或化學治療劑。該等分子適於以對預定目的有效之量以組合形式存在。該等其他藥劑之有效量取決於調配物中所存在抗體之量、疾病或病症或治療之類型以及上文所討論之其他因素。該等其他藥劑通常以與本文所闡述相同之劑量及投與途徑來使用或係上文所用劑量之約1%至99%。亦可將活性成分裝入分別(例如)藉由凝聚技術或藉由介面聚合製備之微膠囊中，例如羥甲基纖維素或明膠微膠囊及聚-(甲基丙烯酸甲酯)微膠囊，該等微膠囊分別呈膠體藥物遞送系統(例如脂質體、白蛋白微球體、微乳液、奈米顆粒及奈米膠囊)形式或呈粗乳液形式。該等技術揭示於*Remington's Pharmaceutical Sciences*，第16版，Osol, A.編輯(1980)中。可製備持續釋放型製劑。持續釋放製劑之適宜實例包含含有拮抗劑之固體疏水聚合物之半透性基質，該等基質呈成形物件之形式，例如膜或微膠囊。持續釋放基質之實例包含聚酯、水凝膠(例如聚(甲基丙烯酸-2-羥乙基酯)或聚(乙烯基醇))、聚交酯(美國專利第3,773,919號)、L-麩胺酸與L-麩胺酸乙基酯之共聚物、不可降解之乙烯-乙烯基、可降解之乳酸-乙醇酸共聚物(例如LUPRON DEPOT™(由乳酸-乙醇酸共聚物及乙酸亮丙瑞林(leuprolide acetate)組成之可注射微球體))及聚-D-(-)-3-羥基丁酸。

可使用脂轉染試劑或脂質體將本發明之多肽及抗體(或其片段)或組合物遞送至細胞中。在使用抗體片段之情形下，特異性結合靶蛋白之結合結構域之最小抑制片段較佳。舉例而言，基於抗體之可變區序列，可設計保留結合靶蛋白序列之能力之肽分子。該等肽可以化學方式合成及/或藉由重組DNA技術產生。例如參見Marasco等人，*PNAS USA*, 90:7889-7893, (1993)。

亦可將活性成分裝入分別(例如)藉由凝聚技術或藉由介面聚合製

備之微膠囊中，例如羥甲基纖維素或明膠微膠囊及聚-(甲基丙烯酸甲酯)微膠囊，該等微膠囊分別呈膠體藥物遞送系統(例如脂質體、白蛋白微球體、微乳液、奈米顆粒及奈米膠囊)形式或呈粗乳液形式。該等技術揭示於Remington's PHARMACEUTICAL SCIENCES (見上文)。

可製備持續釋放型製劑。緩釋製劑之適宜實例包含含有抗體(或其片段)之固態疏水性聚合物之半滲透性基質，該等基質係以成形物件形式呈現，例如薄膜或微膠囊。持續釋放基質之實例包含聚酯、水凝膠(例如聚(甲基丙烯酸-2-羥乙基酯)或聚(乙烷基醇))、聚交酯(美國專利第3,773,919號)、L-麩胺酸與L-麩胺酸乙基酯之共聚物、不可降解之乙烯-乙酸乙烯酯、可降解之乳酸-乙醇酸共聚物(例如LUPRON DEPOT™ (由乳酸-乙醇酸共聚物及乙酸亮丙瑞林(leuprolide acetate)組成之可注射微球體))及聚-D-(-)-3-羥基丁酸。儘管諸如乙烯-乙酸乙烯酯及乳酸-乙醇酸等聚合物能夠釋放分子100天以上，但某些水凝膠卻係釋放蛋白質一段較短的時間段。當經囊封抗體或AAC長時間保持於身體中時，其等會因於37℃下曝露至濕氣而產生變性或聚集，從而導致生物活性損失及免疫原性之可能變化。端視所涉及機制，可設計出合理策略以達成穩定化。舉例而言，若發現聚集機制係經由硫代-二硫化物互換形成分子間S-S鍵，則可藉由對巯基殘基進行修飾、自酸性溶液凍乾、控制水份含量、使用適當添加劑及產生特定聚合物基質組合物來達成穩定化。

在某些實施例中，該調配物係以以下濃度包括本文所闡述之抗VEGFR2抗體：大於約0.5 mg/ml、大於約1 mg/ml (例如約1.1、約1.2、約1.3、約1.4、約1.5、約1.6、約1.7、約1.8、約1.9或大於約1.9 mg/ml)、大於約2 mg/ml (例如約2.1、約2.2、約2.3、約2.4、約2.5、約2.6、約2.7、約2.8、約2.9或大於約2.9 mg/ml)、大於約3 mg/ml、大

於約4 mg/ml、大於約5 mg/ml、大於約6 mg/ml、大於約7 mg/ml、大於約8 mg/ml、大於約9 mg/ml、大於約10 mg/ml、大於約11 mg/ml、大於約12 mg/ml、大於約13 mg/ml、大於約14 mg/ml或約15 mg/ml，包含該等值之間之任一範圍。

在某些實施例中，在包括檸檬酸鹽、組胺酸、乙酸鹽、磷酸鹽、蔗糖、NaCl、琥珀酸鹽、甘胺酸、聚山梨醇酯80 (Tween 80)或前述物質之任一組合之緩衝液中調配抗VEGFR2抗體。在某些實施例中，在包括約10mM檸檬酸鹽、約10mM乙酸鹽或約10mM磷酸鹽之緩衝液中調配抗VEGFR2抗體。在某些實施例中，在包括約50mM至約100 mM NaCl之緩衝液中調配抗VEGFR2抗體。在某些實施例中，在包括約0.5%至約3%甘胺酸之緩衝液中調配抗VEGFR2抗體。在某些實施例中，在包括約0.005%至約0.02%聚山梨醇酯80 (Tween 80)之緩衝液中調配抗VEGFR2抗體。在某些實施例中，在pH介於約5.5與6.5之間之緩衝液中調配抗VEGFR2抗體。在某些實施例中，在包括10 mM 檸檬酸鹽、75 mM NaCl、2%甘胺酸、2%蔗糖及0.02%聚山梨醇酯80之緩衝液中調配抗VEGFR2抗體，其中該調配物處於pH=6.0下。在某些實施例中，在包括10 mM乙酸鹽、75 mM NaCl、2%甘胺酸、2%蔗糖及0.02%聚山梨醇酯80之緩衝液中調配抗VEGFR2抗體，其中該調配物處於pH=6.0下。在某些實施例中，在包括10 mM磷酸鹽、75 mM NaCl、2%甘胺酸、2%蔗糖及0.02%聚山梨醇酯80之緩衝液中調配抗VEGFR2抗體，其中該調配物處於pH=6.0下。

在某些實施例中，包括本文所提供之抗VEGFR2抗體之調配物可在-80℃下穩定約0.5週、1.0週、1.5週、2.0週、2.5週、3.5週、4.0週、4.5週或5.0週(包含該等值之間之任一範圍)。在某些實施例中，包括本文所提供之抗VEGFR2抗體之調配物(例如包括10 mM檸檬酸鹽、75 mM NaCl、2%甘胺酸、2%蔗糖及0.02%聚山梨醇酯80之調配

物，其中該調配物處於pH=6.0下)可在加速條件下(例如儲存於約40℃下)穩定約0.5週、1.0週、1.5週、2.0週、2.5週、3.5週、4.0週、4.5週或5.0週(包含該等值之間之任一範圍)。

用於活體內投與之調配物必須無菌。此可輕易地藉由(例如)過濾經由無菌過濾膜達成。

使用抗表皮生長因子受體抗體之診斷及成像方法

特異性結合VEGFR2多肽之經標記抗VEGFR2抗體、其片段及其衍生物及類似物可用於診斷目的，以檢測、診斷或監測與VEGFR2之表現、異常表現及/或活性有關之疾病及/或病症。舉例而言，本文所提供之抗VEGFR2抗體(或其片段)可用於原位、活體內、離體及活體外診斷分析或成像分析中。檢測VEGFR2多肽之表現之方法：包括(a)使用本發明之一或多種抗體分析多肽在個體之細胞(例如組織)或體液中之表現，及(b)比較基因表現程度與標準基因表現程度，藉此所分析基因表現程度與標準表現程度相比之增加或降低指示異常表現。

本文所提供之其他實施例包含診斷動物(例如哺乳動物，例如人類)中與VEGFR2之表現或異常表現有關之疾病或病症的方法。該等方法包括檢測哺乳動物中之VEGFR2分子。在某些實施例中，診斷包括：(a)向哺乳動物投與有效量之經標記抗VEGFR2抗體(或其片段)；(b)在投與後等待某一時間間隔以允許經標記抗VEGFR2抗體(或其片段)優先聚集於個體中表現VEGFR2分子之位點處(且將未結合標記分子清除至背景含量)；(c)測定背景含量；及(d)檢測個體中之經標記分子，從而在檢測到所標記分子高於背景含量時可指示個體患有與EGFR之表現或異常表現有關之特定疾病或病症。可藉由各種方法來測定背景含量，該等方法包含比較所檢測經標記分子之量與先前針對特定系統所測定之標準值。

本文所提供之抗VEGFR2抗體(或其片段)可用於使用熟習此項技

術者已知之古典免疫組織學方法來分析生物試樣中之蛋白質含量(例如參見Jalkanen等人, *J. Cell. Biol.* 101:976-985 (1985); Jalkanen, 等人, *J. Cell. Biol.* 105:3087-3096 (1987))。可用於檢測蛋白質基因表現之其他基於抗體之方法包含免疫分析, 例如酶聯免疫吸附分析(ELISA)及放射免疫分析(RIA)。業內已知適宜抗體分析標記且包含: 酶標記, 例如葡萄糖氧化酶; 放射性同位素, 例如碘(^{131}I 、 ^{125}I 、 ^{123}I 、 ^{121}I)、碳(^{14}C)、硫(^{35}S)、氫(^3H)、銦($^{115\text{m}}\text{In}$ 、 $^{113\text{m}}\text{In}$ 、 ^{112}In 、 ^{111}In)及鎝(^{99}Tc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$)、鈦(^{201}Ti)、鎳(^{68}Ga 、 ^{67}Ga)、鈀(^{103}Pd)、鉬(^{99}Mo)、氙(^{133}Xe)、氟(^{18}F)、 ^{153}Sm 、 ^{177}Lu 、 ^{159}Gd 、 ^{149}Pm 、 ^{140}La 、 ^{175}Yb 、 ^{166}Ho 、 ^{90}Y 、 ^{47}Sc 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{142}Pr 、 ^{105}Rh 、 ^{97}Ru ; 發光胺; 及螢光標記, 例如螢光黃及玫瑰紅; 及生物素。

可將業內已知技術應用於本文所提供之經標記抗體(或其片段)。該等技術包含但不限於使用雙官能偶聯劑(例如參見美國專利第5,756,065號; 第5,714,631號; 第5,696,239號; 第5,652,361號; 第5,505,931號; 第5,489,425號; 第5,435,990號; 第5,428,139號; 第5,342,604號; 第5,274,119號; 第4,994,560號; 及第5,808,003號)。或者或另外, 可(例如)經由螢光原位雜交(使用對應於編碼EGFR之核酸或其補體之基於核酸之探針)(FISH; 參見1998年10月公開之W098/454 79)、南方印跡術、北方印漬術或聚合酶鏈反應(PCR)技術(例如實時定量 PCR (RT-PCR))來量測細胞中VEGFR2多肽編碼核酸或mRNA之含量。亦可藉由(例如)使用基於抗體之分析量測生物流體(例如血清)中之脫落抗原來研究VEGFR2過表現(亦例如參見1990年6月12日發行之美國專利第4,933,294號; 1991年4月18日公開之W091/05264; 1995年3月28日發行之美國專利5,401,638; 及Sias等人, *J. Immunol. Methods* 132:73-80 (1990))。除上述分析外, 熟習此項技術者可使用各種活體內及離體分析。舉例而言, 可將哺乳動物身

體內之細胞曝露於視情況經可檢測標記(例如放射性同位素)標記之抗體，且可(例如)藉由外部掃描放射性或藉由分析自先前曝露於抗體之哺乳動物獲取之試樣(例如生檢或其他生物試樣)來評估抗體結合。

製品及套組

本發明之另一實施例係含有可用於治療癌症(例如結腸癌、結腸直腸癌、胃癌、胃食管癌、膀胱癌、肺癌及實體腫瘤)或特徵在於過度血管生成之病理學病狀(例如闡述於本文其他處者)之材料之製品。該製品可包括容器及位於該容器上或與該容器相連之標記或包裝插頁。適宜容器包含(例如)瓶、小瓶、注射器等。該等容器可自多種材料(例如玻璃或塑膠)形成。通常，該容器可容納有效治療病狀之組合物且可具有無菌存取通道(舉例而言，該容器可為靜脈內溶液袋或具有可由皮下注射針刺穿之塞子之小瓶)。組合物中之至少一種活性劑係本文所提供之抗VEGFR2抗體(或其片段)。標記或包裝插頁指示該組合物用於治療特定病狀。標記或包裝插頁將進一步包括用於向患者投與抗體組合物之說明書。亦涵蓋包括本文所闡述之組合療法之製品及套組。

包裝插頁係指通常包含於治療產品之商業包裝內之說明書，其含有關於適應症、用法、劑量、投與、禁忌症及/或關於該等治療產品之使用之警告之資訊。在一實施例中，包裝插頁指示該組合物用於治療癌症(例如結腸癌、結腸直腸癌、胃癌、胃食管癌、膀胱癌、肺癌及實體腫瘤)或特徵在於過度血管生成之病理學病狀(例如闡述於本文其他處者)。

另外，製品可進一步包括第二容器，該第二容器包括醫藥上可接受之緩衝液，例如注射用抑菌水(BWFI)、磷酸鹽緩衝鹽水、林格氏溶液(Ringer's solution)及右旋糖溶液。其可進一步包含自商業及使用者角度來看期望之其他材料，包含其他緩衝液、稀釋劑、濾膜、針

接下來，分析純系V1-V10至人類臍靜脈內皮細胞(HUVEC，其表現VEGFR2)之結合。簡言之，使用PBS將HUVEC (2×10^5)洗滌一次，使用4%多聚甲醛在4℃下固定30分鐘，使用FACS緩衝液(於PBS中之1%胎牛血清)洗滌，且轉移至96孔板之孔中(2×10^5 個細胞/孔)。在以 $500 \times g$ 在4℃下離心5分鐘後，向孔中添加100 μ l抗體(自3 μ l/ml儲備液稀釋3倍)且在4℃下培育30分鐘。然後使用FACS緩衝液將細胞洗滌兩次且與抗Fcr-FITC抗體一起在4℃下培育30分鐘。然後使用FACS緩衝液將細胞洗滌三次，使用4%多聚甲醛在4℃下固定30分鐘，且以 $500 \times g$ 在4℃下離心5分鐘。棄除上清液。將細胞再懸浮於FACS緩衝液中且經由流式細胞術進行分析。如圖3中所展示，儘管發現純系V9結合HUVEC，但發現1121B (參考A)及1211N (參考B)皆不結合HUVEC。

表5之第8及9列提供HUVEC管形成分析之定性結果，該等分析經實施以評價純系V1-V10抑制血管生成之能力。在培養於生長因子減少之基底膜提取物之凝膠時，HUVEC形成毛細血管樣管狀結構。如下所述來實施分析：將經解凍基質膠(生長因子減少)添加至 μ -載玻片(IBIDI)中且使其在37℃下聚合1小時。自板剝離經培養HUVEC (來自BD Biosciences)，洗滌3次，且再懸浮於培養基(EBM-2 + 10% 「已用」 EGM-2 (亦即培養2夜，然後收集且過濾) + 5 ng/ml bFGF)中。將50 μ l HUVEC與0.2 μ g/ml或5 μ g/ml每一抗體一起在37℃下培育20分鐘。將50 ng/ml VEGF-165 (亦即VEGF-A之165胺基酸剪接變體)添加至每一板中，且將板在37℃下培育6小時。在測試5 μ g/ml之每一抗體時，V8展現其HUVEC管形成抑制強於1121B。1121B展現其HUVEC管形成抑制強於V5、V6或V9。V5、V6及V9展現其HUVEC管形成抑制強於V2或V10。V7、V4及V1在5 μ g/ml下不展現HUVEC管形成抑制。(數據未展示。)在測試0.2 μ g/ml之每一抗體時，V8及1121B展現其HUVEC管形成抑制強於V2或V6。V2及V6展現其HUVEC管形成抑制

強於V10、V9、V4及V4。V5及V1在0.2 $\mu\text{g/ml}$ 下不展現HUVEC管形成抑制。(數據未展示。)

使用來自BD Biosciences及Bioresource Collection and Research Center之HUVEC之混合物重複HUVEC管形成分析。測試2500 ng/ml、50 ng/ml及1 ng/ml之每一抗體。在使用2500 ng/ml之每一抗體時，1121B、V7、V8、V9及V10展現其HUVEC管形成抑制強於V1、V2及V6。(數據未展示。) 在使用50 ng/ml之每一抗體時，1121B及V6展現其HUVEC管形成抑制強於V1、V2、V7、V8及V9。V10在50 ng/ml下不展現HUVEC管形成抑制。(數據未展示。) 在使用1 ng/ml之每一抗體時，1121B及V7展現其HUVEC管形成抑制強於V6及V10。V8、V9、V1及V2在1ng/ml下不展現HUVEC管形成抑制。(數據未展示。)

表5之第10列提供HUVEC遷移分析之定性結果，該等分析經實施以評價純系V1-V10抑制HUVEC之遷移活性之能力。如下所述來實施分析：將鋪滿HUVEC (8×10^5 個細胞/板)繼代培養26小時，然後剝離，在EBM-2 (內皮基礎培養基-2)中洗滌三次，且以約 5×10^5 個細胞/ μl 之濃度再懸浮於EBM-2中。將0.1 ml細胞懸浮液與30 $\mu\text{g/ml}$ 抗體一起在37°C下培育20分鐘。使用50ml PBS沖洗8微米孔徑transwell滲透性支架插入物(Millipore)且使用50 μl 10 $\mu\text{g/ml}$ 纖連蛋白($2 \mu\text{g/cm}^2$)塗覆3小時。去除塗覆溶液，且將細胞懸浮液/抗體混合物轉移至transwell中。將transwell轉移至具有下腔室之孔中，該等下腔室含有0.7 ml EBM-2且含有或不含400 ng/ml VEGF165-Fc。在培育16-17小時後，去除剩餘細胞，且使用PBS將transwell洗滌兩次。使用100%甲醇將所遷移細胞固定20分鐘，乾燥，且然後使用0.15%結晶紫在0.1M硼酸鹽/2%乙醇(pH=9)中染色30分鐘。然後使用dH₂O洗滌經染色transwell，且使用棉簽清洗transwell之上表面。使用60 μl 10%乙酸提取經染色細胞。在

590 nM下量測吸光度值。根據下式來測定遷移%：

$$\text{遷移\%} = \frac{\text{試樣OD}_{590} - \text{不含VEGF之OD}_{590}}{\text{含有VEGF之OD}_{590} - \text{不含VEGF之OD}_{590}} \times 100$$

V1及V2顯示其HUVEC遷移抑制強於V8、V9、V10及1211B。參見圖4。

表5之第11列提供HUVEC存活分析之定性結果，該等分析經實施以評價純系V1-V10抑制HUVEC存活之能力。簡言之，使HUVEC在含有800 μ l EGM-2培養基之48孔培養板中生長直至鋪滿為止且然後使用PBS洗滌三次。向孔中添加抗VEGFR2抗體之連續稀釋液且在37°C下培育30分鐘。在向每一孔中添加VEGF-165-Fc後，將細胞在37°C下(5% CO₂)培育2天。在第3天，向每一孔中添加80 μ l 5 mg/ml MTT(亦即在活細胞中還原成紫色甲瓚(formazan)之黃色四唑)且培育3小時。向每一孔中添加100 μ l DMSO，且量測每一孔在565 nm下之吸光度。V9、V1及1121B (參考A)展現其HUVEC存活抑制強於V10。V7、V6、V2及V8不展現HUVEC存活抑制。(參見圖5。)

表5之第12列提供HUVEC細胞增殖分析之定性結果，該等分析經實施以評價純系V1-V10抑制HUVEC增殖之能力。如下所述來實施分析：自培養板剝離HUVEC，再懸浮於EBM-2培養基中，且接種至48孔組織培養板之孔中。向孔中添加每一抗體之連續稀釋液且在37°C下培育30分鐘。在向每一孔中添加VEGF-165後，將細胞在37°C下(5% CO₂)培育3天。在培育結束時，向每一孔中添加80 μ l 5 mg/ml MTT且培育3小時。向每一孔中添加100 μ l DMSO，且量測每一孔在565 nm下之吸光度。V9展現其HUVEC增殖抑制強於V1及1121B。V1及1121B展現其HUVEC存活抑制強於V10及V7。V6、V2及V8不展現HUVEC增殖抑制。(參見圖6。)

表5之第13列提供活體外HUVEC發芽分析之定性結果，該等分析

經實施以評價V1-V10抑制由血管生成因子誘導之HUVEC發芽(亦即3維血管生成)之能力。簡言之，將25 ng/ml VEGF₁₆₅ (eBioscience)、20 ng/ml bFGF (eBioscience)及增加濃度之1121B (參考A)、癌思停、V1或V9添加至培養基:甲基纖維素(methocel) (40:60)溶液(100 µl)中。然後將此混合物與工作膠原溶液(於1×PBS中，pH 7.0)以1:1混合。在混合之後，立即將基質添加至預升溫之48孔板中且返回37°C。同時，收集(150 ×g，關閉突然制動功能(no brake)) HUVEC (其在未處理無菌96孔微量板中經18 h誘導形成750個細胞之球形體)，使用PBS洗滌一次，且然後懸浮於EBM-2 (約50個球形體/mL)中。將經懸浮球形體轉移至微量管中且丸化。在抽吸上清液之後，含有生長因子及抗體之培養基:甲基纖維素溶液(150 µl)分層於糰粒上，隨後添加150 µl工作膠原儲備液。立即混合溶液且轉移至含有基質底塗層之板中。在37°C下培育2小時之後，將150 µl含有生長因子及抗體之培養基添加至每一孔之表面上。在37°C下培育48-64小時之後，使芽成像。

表5之第14列提供基質膠塞分析之定性結果，該等分析經實施以評價V1-V9抑制活體內血管生成之能力。在嚴重聯合免疫缺失小鼠(SCID)中實施實驗。藉由將懸滴中之1000個HUVEC移液至未處理96孔微量板中以容許過夜形成球形體來製備HUVEC球形體。第二天，收穫HUVEC球形體且與單一HUVEC一起混合於基質膠溶液中以達到每一注射塞中具有100個HUVEC球形體及200,000個單一HUVEC之最終數量。以1000 ng/mL之最終濃度添加VEGF₁₆₅及纖維母細胞生長因子2 (FGF-2)。向每一治療組中之兩隻SCID小鼠經皮下注射0.5 mL迅速聚合之細胞/基質懸浮液。自第0天(在細胞/基質接種之後4小時)開始每週兩次投用抗體。在第18天，終止研究。去除基質膠塞，照相且在室溫下於4%多聚甲醛中固定4至12小時。然後，使用標準程序對塞進行石蠟包埋。為進行人類血管系統之組織學檢驗，自所有塞製備石

如上所述使用純系 V9/V9 (LC/HC)、29/V9 (LC/HC)、34/V9 (LC/HC)、67/V9 (LC/HC)、29/34 (LC/HC)、34/34 (LC/HC)、67/34 (LC/HC)、1121B (參考A)、1121N (參考B)及癌思停來實施HUVEC增殖分析。如圖11A及11B中所展示，34/V9 (LC/HC)、67/V9 (LC/HC)及29/V9 (LC/HC)在所測試所有純系中展現最強HUVEC增殖抑制。

如上所述使用純系 V9/V9 (LC/HC)、29/V9 (LC/HC)、34/V9 (LC/HC)、67/V9 (LC/HC)、29/34 (LC/HC)、34/34 (LC/HC)、67/34 (LC/HC)、1121B (參考A)、1121N (參考B)及癌思停來實施HUVEC存活分析。如圖12A及12B中所展示，34/V9 (LC/HC)、67/V9 (LC/HC)及29/V9 (LC/HC)在所測試所有純系中展現最強HUVEC存活抑制。

如上所述使用純系 V9/V9 (LC/HC)、29/V9 (LC/HC)、34/V9 (LC/HC)、67/V9 (LC/HC)、29/34 (LC/HC)、34/34 (LC/HC)、67/34 (LC/HC)、1121B (參考A)、1121N (參考B)及癌思停來實施HUVEC管形成分析。1121N (參考B)展現最強HUVEC管形成抑制。V9/V9 (LC/HC)、29/V9 (LC/HC)、67/V9 (LC/HC)及1121B (參考A)展現其HUVEC管形成強於29/34 (LC/HC)。(數據未展示。)

如上所述使用純系 V9/V9 (LC/HC)、29/V9 (LC/HC)、34/V9 (LC/HC)、67/V9 (LC/HC)、29/34 (LC/HC)、34/34 (LC/HC)、67/34 (LC/HC)、1121B (參考A)、1121N (參考B)及癌思停來實施HUVEC發芽分析。1121N (參考B)展現最強HUVEC發芽抑制。67/34 (LC/HC)及34/34 (LC/HC)展現其HUVEC發芽抑制強於1121B (參考A)。1121B (參考A)展現其HUVEC發芽抑制強於34/V9 (LC/HC)。34/V9 (LC/HC)展現其HUVEC發芽抑制強於V9/V9 (LC/HC)及67/34 (LC/HC)，後二者展現發芽抑制強於29/34 (LC/HC)。29/V9 (LC/HC)並不顯示強HUVEC發芽抑制。(數據未展示。)

選擇純系29、34及67且用作生成CDR-H1/CDR-H1/CDR-H2文庫

之基礎。經由PCR生成CDR-H1/CDR-H1/CDR-H2核酸文庫，選殖至噬菌體展示載體中，且轉變至大腸桿菌中以產生噬菌體文庫。在兩輪淘選之後，經由ELISA篩選7種純系(亦即80A、80B、86A、86B、88、109、110A及110B)且發現其具有改良之結合性質。

如下所述使用包括下列輕鏈/重鏈組合：V9/V9 (LC/HC)、34/80A (LC/HC)、34/80B (LC/HC)、34/86A (LC/HC)、34/86B (LC/HC)、29/88 (LC/HC)、109/109 (LC/HC)、110A/110A (LC/HC)、110B/110B (LC/HC)、29/V9 (LC/HC)、34/34 (LC/HC)及67/34 (LC/HC)之抗VEGFR2抗體純系實施其他ELISA：使用抗Fc抗體在微量滴定盤之孔中捕獲每一純系及1121B (參考A)之連續稀釋液。使用AP-偶聯VEGFR2-AP。向孔中添加鹼性磷酸酶受質，且在培育後停止反應，且藉由監測405 nm下吸光度之增加來量測AP活性(圖13A及13B)。1121B (參考A)顯示至VEGFR2之最強結合，隨後係34/86A (LC/HC)、34/86B (LC/HC)及34/34 (LC/HC)，且隨後係29/88 (LC/HC)、109/109 (LC/HC)及29/V9 (LC/HC)。

實施其他ELISA，其中使用抗Fd在微量滴定盤之孔中捕獲V9/V9 (LC/HC)、34/80A (LC/HC)、34/80B (LC/HC)、34/86A (LC/HC)、34/86B (LC/HC)、29/88 (LC/HC)、109/109 (LC/HC)、110A/110A (LC/HC)、110B/110B (LC/HC)、29/V9 (LC/HC)、34/34 (LC/HC)、67/34 (LC/HC)及1121B。使用AP-偶聯VEGFR2-AP。向孔中添加鹼性磷酸酶受質，且在培育後停止反應，且藉由監測405 nm下吸光度之增加來量測AP活性(圖13C及13D)。1121B (參考A)顯示至VEGFR2之最強結合，隨後係34/86A (LC/HC)、34/86B (LC/HC)及34/34 (LC/HC)，且隨後係29/88 (LC/HC)、109/109 (LC/HC)及29/V9 (LC/HC)。所測試所有

純系皆顯示至VEGFR2之結合強於V9 (參見圖13D)。

實施第三組ELISA。簡言之，使用VEGFR2-Fc在微量滴定盤之孔中捕獲V9/V9 (LC/HC)、34/80A (LC/HC)、34/80B (LC/HC)、34/86A (LC/HC)、34/86B (LC/HC)、29/88 (LC/HC)、109/109 (LC/HC)、110A/110A (LC/HC)、110B/110B (LC/HC)、29/V9 (LC/HC)、34/34 (LC/HC)、67/34 (LC/HC)及1121B。使用抗人類κ-HRP-偶聯二級抗體量化每一孔中所捕獲抗體之量。向孔中添加HRP-偶聯二級抗體，且在培育後洗滌掉過量二級抗體。向孔中添加TMB，且在培育後停止反應，且藉由監測450 nm下吸光度之增加來量測HRP活性(圖14A及圖14B)。34/80A (LC/HC)、34/80B (LC/HC)、34/86A (LC/HC)、29/88 (LC/HC)、109/109 (LC/HC)、110A/110A (LC/HC)、110B/110B (LC/HC)、29/V9 (LC/HC)、34/34 (LC/HC)及67/34 (LC/HC)顯示至VEGFR2之最強結合，隨後係V9/V9 (LC/HC)及34/86B (LC/HC)。所測試所有純系皆顯示其至VEGFR2之結合強於1121B (參考A)。

實施其他ELISA，其中簡言之，使用固定於中和抗生物素蛋白塗覆之微量滴定盤之孔中之生物素化VEGFR2-Fc捕獲V9/V9 (LC/HC)、34/80A (LC/HC)、34/80B (LC/HC)、34/86A (LC/HC)、34/86B (LC/HC)、29/88 (LC/HC)、109/109 (LC/HC)、110A/110A (LC/HC)、110B/110B (LC/HC)、29/V9 (LC/HC)、34/34 (LC/HC)、67/34 (LC/HC)及1121B。使用抗人類κ-HRP-偶聯二級抗體量化每一孔中所捕獲抗體之量。向孔中添加HRP-偶聯二級抗體，且在培育後洗滌掉過量二級抗體。向孔中添加TMB，且在培育後停止反應，且藉由監測450 nm下吸光度之增加來量測HRP活性(圖14C及圖14D)。34/80A (LC/HC)、34/80B (LC/HC)、34/86A (LC/HC)、29/88 (LC/HC)、109/109 (LC/HC)、110A/110A (LC/HC)、110B/110B (LC/HC)、29/V9 (LC/HC)、34/34 (LC/HC)及67/34 (LC/HC)顯示至VEGFR2之最強結

洗滌兩次之後，向每一孔中添加生物素化兔抗人類IgG且在4℃下培育30分鐘。在使用FACS緩衝液再洗滌兩次之後，向每一孔中添加鏈黴抗生物素蛋白-PE (亦即偶聯至藻紅素之鏈黴抗生物素蛋白)且培育。使用FACS緩衝液將孔洗滌兩次，使用4%多聚甲醛固定，且離心。棄除上清液，且將細胞再懸浮於FACS緩衝液中並經由流式細胞術進行分析。如圖15中所展示，純系110A/110A (LC/HC)、110B/110B (LC/HC)及109/109 (LC/HC)展現其至HUVECS之結合強於1121N，後者展現其至HUVEC之結合強於34/V9 (LC/HC)。所測試所有純系皆展現其至HUVEC之結合強於1121B。該等結果對應於上述ELISA結果。

如上所述使用純系V9/V9 (LC/HC)、34/80B (LC/HC)、34/86A (LC/HC)、34/86B (LC/HC)、29/88 (LC/HC)、109/109 (LC/HC)、110A/110A (LC/HC)、110B/110B (LC/HC)、1121B (參考A)、1121N (參考B)及癌思停來實施HUVEC增殖分析。如圖16A及16B中所展示，110A/110A (LC/HC)及110B/110B (LC/HC)在所測試所有純系(包含1121B (參考A)及1121N (參考B))中展現最強HUVEC增殖抑制。109/109 (LC/HC)展現其HUVEC增殖抑制強於1121N (參考B)，後者展現其HUVEC增殖抑制強於34/86A (LC/HC)、34/86B (LC/HC)、29/88 (LC/HC)及V9/V9 (LC/HC)。34/86A (LC/HC)、34/86B (LC/HC)、29/99 (LC/HC)及V9/V9 (LC/HC)展現其HUVEC增殖抑制強於1121B (參考A)，1121B (參考A)展現其HUVEC增殖抑制強於34/80A (LC/HC)。

如上所述使用純系V9/V9 (LC/HC)、34/80B (LC/HC)、34/86A (LC/HC)、34/86B (LC/HC)、29/88 (LC/HC)、109/109 (LC/HC)、110A/110A (LC/HC)、110B/110B (LC/HC)、1121B (參考A)、1121N (參考B)及癌思停來實施HUVEC存活分析。如圖17A及17B中所展示，110A/110A (LC/HC)及110B/110B (LC/HC)在所測試所有純系(包含

1121B (參考A)及1121N (參考B))中展現最強HUVEC存活抑制。109/109 (LC/HC)展現其HUVEC存活抑制強於1121N (參考B)，後者展現其HUVEC存活抑制強於34/86A (LC/HC)、34/86B (LC/HC)、29/88 (LC/HC)及V9/V9 (LC/HC)。34/86A (LC/HC)、34/86B (LC/HC)、29/99 (LC/HC)及V9/V9 (LC/HC)展現其HUVEC存活抑制強於1121B (參考A)，1121B (參考A)展現其HUVEC存活抑制強於34/80A (LC/HC)。

如上所述使用純系V9/V9 (LC/HC)、34/80B (LC/HC)、34/86A (LC/HC)、34/86B (LC/HC)、29/88 (LC/HC)、109/109 (LC/HC)、110A/110A (LC/HC)、110B/110B (LC/HC)、1121B (參考A)、1121N (參考B)及癌思停來實施HUVEC管形成分析。1121N (參考B)在所測試所有純系中展現最強HUVEC管形成抑制。110A/110A (LC/HC)及110B/110B (LC/HC)展現其HUVEC管形成抑制強於癌思停，癌思停展現其HUVEC管形成抑制強於29/88 (LC/HC)。29/88 (LC/HC)展現其HUVEC管形成抑制強於109/109 (LC/HC)，後者展現其HUVEC管形成抑制強於34/80B (LC/HC)及34/86A (LC/HC)。34/80B (LC/HC)及34/86A (LC/HC)展現其HUVEC管形成抑制強於V9/V9 (LC/HC)，V9/V9 (LC/HC)展現其HUVEC管形成抑制強於34/86B (LC/HC)。

如上所述使用純系V9/V9 (LC/HC)、34/80B (LC/HC)、34/86A (LC/HC)、34/86B (LC/HC)、29/88 (LC/HC)、109/109 (LC/HC)、110A/110A (LC/HC)、110B/110B (LC/HC)、1121B (參考A)、1121N (參考B)及癌思停來實施HUVEC發芽分析。1121N (參考B)在所測試所有純系中展現最強HUVEC發芽抑制。110A/110A (LC/HC)及110B/110B (LC/HC)展現其HUVEC發芽抑制強於109/109 (LC/HC)，109/109 (LC/HC)展現其HUVEC發芽抑制強於34/86A (LC/HC)。34/86A (LC/HC)展現其HUVEC發芽抑制強於34/86B (LC/HC)，後者展

現其HUVEC發芽抑制強於29/88 (LC/HC)。29/88 (LC/HC)展現其HUVEC發芽抑制強於34/80B (LC/HC)，後者展現其HUVEC發芽抑制強於V9/V9 (LC/HC)。

實施另一組ELISA以評價純系34/V9 (LC/HC)、109/109 (LC/HC)、110A/110A (LC/HC)及110B/110B (LC/HC)與1121B (參考A)、1121N (參考B)相比之交叉物種活性。使用小鼠VEGFR2-Fc作為捕獲試劑，且使用抗人類 κ -HRP-偶聯二級抗體量化每一孔中所捕獲抗體之量。向孔中添加HRP-偶聯二級抗體，且在培育後洗滌掉過量二級抗體。向孔中添加TMB，且在培育後停止反應，且藉由監測450 nm下吸光度之增加來量測HRP活性。圖18A及18B展示重複ELISA實驗之結果，其中110B/110B展示對小鼠VEGFR2具有最強結合親和力。

接下來，實施分析以評價110/110B (LC/HC)與1121N (參考B)相比抑制VEGFR2磷酸化之能力。簡言之，將 8×10^5 個HUVEC細胞接種於10 cm盤中且生長至鋪滿。然後將培養基更換為EBM-2以在37°C下進行血清饑餓。將抗體添加至每一盤中且在37°C下培育30分鐘。接下來，在37°C下，將25 μ g/ml VEGF165 (eBioscience，目錄編號68-8784-82)添加至每一盤中保持10分鐘以刺激VEGFR2。在添加VEGF165後，抽吸培養基，且使用冷PBS洗滌細胞。棄除PBS，且向每一盤中添加細胞裂解緩衝液(Cell Signaling，目錄編號9803S) + 1 $\times$ Halt蛋白酶及磷酸酶抑制劑混合劑(Pierce，目錄編號PIE78440) + 5mM Na₃VO₄。在4°C下培育5分鐘之後，收集細胞且裂解，經受兩個冷凍-解凍循環，且在4°C下以14,000 $\times$ g離心15分鐘。將上清液轉移至新管中且使用BCA試劑(Pierce，目錄編號PIE23225)量化每一管中之總蛋白質。將150 μ g每一總裂解物與5 μ g IMC-112N (亦即參考B，內部製備，批號1405090516)一起用於免疫沈澱反應中。將免疫沈澱反應液在4°C及傾斜旋轉下培育過夜。然後使用蛋白質A珠粒純化免

疫沈澱反應液，洗滌，且經由西方印漬術使用小鼠抗磷酸酪胺酸(4G10)抗體(Millipore，目錄編號05-1050)分析，隨後使用HRP-偶聯二級抗體進行分析。添加ECL，且藉由x射線膠片檢測抗磷酸酪胺酸抗體結合。然後使用剝離緩衝液(Thermo，目錄編號21059)剝離該等膜且使用兔抗VEGFR2 (55B11)抗體(Cell Signaling，目錄編號2479)探測，隨後使用HRP-偶聯二級抗體進行探測。添加ECL，且藉由x射線膠片檢測抗VEGFR2抗體結合。如圖19A中所展示，1121N (參考B)在低於110/110B (LC/HC)之濃度下更強抑制VEGFR2磷酸化。圖19A之結果量化於圖19B中。

實施如上文所闡述之遷移分析以評價純系V9、34/80A (LC/HC)、34/86A (LC/HC)、34/86B (LC/HC)、29/88 (LC/HC)、109/109 (LC/HC)、110/110A (LC/HC)及110/110B (LC/HC)抑制HUVEC遷移活性之能力。如圖20中所展示，109/109 (LC/HC)顯示其HUVEC遷移抑制強於1211N (參考B)。

接下來，實施ELISA實驗以測定抗體110/110B是否能夠結合VEGFR2家族之其他成員。簡言之，將重組人類VEGFR1-Fc融合蛋白(R&D Systems)固定於96孔板之孔中。向孔中添加抗體1121N (參考B)、抗體110/110B及小鼠抗人類VEGFR1 (自10 µg/ml稀釋3倍)。為檢測抗體至固定VEGFR1-Fc之結合，向每一孔中添加山羊抗人類F(ab)₂-HRP或山羊抗小鼠F(ab)₂-HRP。向孔中添加TMB，且在室溫下培育5分鐘後，停止反應，且藉由監測450 nm下吸光度之增加來量測HRP活性。如圖24A中所展示，110/110B及1121N (參考B)皆未發現結合VEGFR1-Fc。

在類似組之ELISA中，將1121N (參考B)、110/110B及小鼠抗人類VEGFR3 (自10 µg/ml稀釋3倍)添加至96孔板中固定VEGFR3-Fc (R&D Systems)之孔中。為檢測抗體至固定VEGFR3-Fc之結合，向每一孔中

添加山羊抗人類F(ab)₂-HRP或山羊抗小鼠F(ab)₂-HRP。向孔中添加TMB，且在室溫下培育15分鐘後，停止反應，且藉由監測450 nm下吸光度之增加來量測HRP活性。如圖24B中所展示，發現110/110B對人類VEGFR3-Fc之結合活性優於1121N (參考B)。

VEGF-C之主要功能之一係淋巴血管生成，其中其經由VEGFR-3作用於淋巴管內皮細胞(LEC)上以促進LEC存活、生長及遷移。實施實驗以測定抗體110/110B對VEGF-C誘導之人類淋巴管內皮細胞(HLEC)增殖之效應。自板剝離HLEC (ScienCell；P5)，經由離心收集，且以 3×10^4 個細胞/ml再懸浮於內皮細胞培養基(ECM) (ScienCell；目錄號1001)中。將100 μ l細胞懸浮液接種至96孔板之每一孔中(亦即達到3000個細胞/孔之計數)。在約24小時之後，使用PBS將HLEC洗滌一次，且向每一孔中添加70 μ l基礎內皮細胞培養基(ECM-b) (ScienCell；目錄號1001-b)。將50 μ l含有1121 (參考B)、110/110B、癌思停®之ECM-b以4×連續稀釋液(亦即自240 μ g/ml開始，其達到80 μ g/ml/孔之最終濃度)添加至孔中且在37℃下培育30分鐘。將30 μ l 2.5 μ g/ml VEGF-C (PeproTech, 目錄號100-20C)添加至一半孔中(亦即達到最終濃度500 ng/孔)，且將板在37℃及5% CO₂下培育約3天(72小時)。向每一孔中添加30 μ l MTS/PMS混合物(MTS (四唑鎢化合物): Promega, 目錄號G1112；PMS (電子偶合劑): GeneLabs, 目錄號AC-A2212.0005)，且將板在37℃下培育3.5小時。藉由發現於代謝活性細胞中之去氫酶將MTS轉化成甲瓚。甲瓚產物之量(如藉由490nm吸光度之量所量測)與培養物中之活細胞數量成正比。如圖25中所展示，1121N (參考B)及110/110B皆抑制VEGF-C誘導之HLEC增殖。

接下來，如下所述來測定抗體110/110B對VEGF-C刺激之VEGFR2磷酸化之效應：將 1×10^6 個HLEC (ScienCell: P5)接種於10 cm盤上且在內皮細胞培養基(ECM) (ScienCell；目錄號1001)中生長至80-

90%鋪滿。然後將培養基更換為ECM-b (ScienCell；目錄號1001-b)且在37°C下培育過夜。將抗體1121N (參考B)或110/110B添加至兩組盤中。在一組盤中，添加0.288 $\mu\text{g/ml}$ 抗體以達到50mM之最終濃度，且在第二組盤中，添加7.2 $\mu\text{g/ml}$ 抗體以達到2mM之最終濃度。添加200 mg/ml VEGF-C (PeproTech；目錄號100-210C)且將盤在37°C下培育10分鐘以刺激VEGFR2磷酸化。在培育後，抽吸培養基，且使用冷1×PBS將每一盤洗滌一次。在棄除PBS之後，將300-400 μl 細胞裂解緩衝液(CellSignaling；目錄號9803S)添加至每一盤中，隨後添加1×HALT蛋白酶及磷酸酶抑制劑混合劑(Pierce；目錄號PIE78440)及5mM Na_3VO_4 。在4°C下培育5分鐘後，收集來自每一盤之每一細胞裂解物且經由27G針均質化。將均質化細胞裂解物轉移至管中，在乾冰上實施兩個冷凍-解凍循環，且然後在4°C下以14,000 $\times g$ 離心15分鐘。將上清液轉移至新管中，且藉由BCA試劑(Pierce；目錄號PIE23225)量測每一管中之總蛋白質濃度。

將150 μg 每一裂解物用於如下所述實施之免疫沈澱實驗中：將5 μg 抗體1121N (參考B)添加至每一裂解物中且在傾斜旋轉及4°C下培育過夜。接下來，將樹脂A添加至每一抗體/裂解物混合物且在傾斜旋轉及4°C下培育2小時。然後將每一混合物添加至Pierce Micro-A Pin管柱(Pierce；目錄號89879)中，且將管柱以2000 $\times g$ 離心1分鐘。然後使用500 μl 洗滌緩衝液(0.02% PBST + 5mM Na_3VO_4)將管柱洗滌5次。將10-15 μl 5×試樣緩衝液添加至每一樹脂A試樣中，且使混合物在95°C下沸騰5分鐘。旋轉每一試樣以使樹脂A丸化，且在6% SDS-PAGE凝膠上解析每一試樣。然後使用標準方法將蛋白質轉移至PVDF膜上。在轉移後，使用5% BSA/PBS阻斷膜。

首先，使用1000×稀釋之於1% BSA/0.05 PBST (Millipore；目錄號05-1050)中之小鼠抗磷酸酪胺酸(4G10)探測膜且在0.1% PBST中經5

分鐘洗滌三次。接下來，使用於0.05% PBST中之1000×山羊抗小鼠IgG (H+L)在室溫下經1小時探測膜且在0.1% PBST中經5分鐘洗滌三次。添加ECL，且藉由x射線膠片檢測抗磷酸酪胺酸抗體結合。

使用剝離緩衝液(Thermo；目錄編號21059)在室溫下經15分鐘剝離膜且使用0.05% PBST洗滌5分鐘。然後使用5% BSA/PBS再次阻斷膜。

接下來，使用1000×稀釋之於1% BSA/0.05 PBST (CellSignaling；目錄號2479)中之兔抗VEGFR2 (55BB1)探測膜且在0.1% PBST中經5分鐘洗滌三次。接下來，使用於0.05% PBST中之1000×山羊抗兔IgG (H+L)在室溫下經1小時探測膜且在0.1% PBST中經5分鐘洗滌三次。添加ECL，且藉由x射線膠片檢測抗磷酸酪胺酸抗體結合。

如圖26A中所展示，1121N (參考B)及110/110B皆可抑制VEGF-C刺激之VEGFR2磷酸化。圖26A之量化結果展示於圖26B中。抗體1121N (參考B)較抗體110/110B更強烈抑制VEGFR2磷酸化。

實施類似實驗以測定抗體110/110B對VEGF-C刺激之VEGFR3磷酸化之效應。如上所述來實施實驗，其中在免疫沈澱中使用1 μl山羊抗人類VEGFR3 (R&D；目錄號AF349)或3 μl小鼠抗VEGF3 (Millipore；目錄號MAB3757)代替5 μg抗體1121N (參考B)；且使用蛋白質G及蛋白質A珠粒來沈澱抗體/VEGFR3複合物；且使用1000×稀釋之小鼠抗VEGFR3 (Millipore；目錄號MAB3575)代替小鼠抗VEGFR2來探測磷酸化VEGF3。如圖27A中所展示，抗體1121N (參考B)及抗體110/110B皆可抑制VEGF-C刺激之VEGFR3磷酸化。在展示圖27A之量化結果之圖27B中，展示較低濃度之110/110B對VEGFR3磷酸化之抑制效應優於較低濃度之1121N (參考B)。

使用具有人類HCT-116人類結腸癌腫瘤異種移植物之小鼠分析純系 34/V9 (LC/HC)、109/109 (LC/HC)、110A/110A (LC/HC) 及

¹TV：腫瘤體積

²RTV：相對於初始體積之腫瘤體積

³TV/CV%：治療組體積/對照組體積

⁴TGI%：腫瘤生長抑制率= $1 - (T42 - T0) / (C42 - C0) \%$

⁵p值：< 0.05 = * <0.01= ** <0.001=***

提供先前實例僅係出於闡釋性目的，而不意欲以任何方式限制本發明範圍。除本文所展示及闡述者外，熟習此項技術者根據上述說明將明瞭本發明之各種修改，且該等修改屬隨附申請專利範圍之範圍內。

實施例清單

1. 一種抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段不阻斷VEGFR2至VEGF之結合。

2. 一種抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合VEGFR2之結構域5至7。

3. 一種抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段不阻斷VEGFR2至VEGF之結合，且其中該抗體或其抗原結合片段結合VEGFR2之結構域5至7。

4. 如實施例1至3中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該抗體結合至全HUVEC細胞。

5. 如實施例1至4中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段不抑制活體外血管生成。

6. 如實施例1至4中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段抑制活體內血管生成。

7. 如實施例1至4中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段不抑制活體外血管生成，且其中該抗體或其抗原結合片段抑制活體內血管生成。

8. 一種抗血管內皮生長因子受體2 (VEGFR2)抗體或其抗原結合片段，其包括：輕鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列 RASQNIASYLN (SEQ ID NO: 76)或RASQSVS-S/N-S/N-YL-G/A (SEQ ID NO: 83)或TRSRGSIASSYVQ (SEQ ID NO: 80)或RSSQSL-L/V/Y-H/Y-G/S/R-D/N-G-N/K/Y-N/T-Y/F-LD (SEQ ID NO: 84)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列 L/A/G/K/E-G/A/V/N/S-S/D-N/S/Q/K-R/L-A/K/D/P-S/T (SEQ ID NO: 60)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列 M/Q-Q/S-A/S/R/G/Y-L/Y/S/A/D/G/T-Q/S/N/H/F-T/I/W/S-P/T-Y/L/P/V/G/I-T/V (SEQ ID NO: 72)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列 T/S-Y-Y/G/A/S-M/I-H/N/S (SEQ ID NO: 34)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列 I/V/G/S-I-N/S/I-P/Y/S/G-S/D/I-G/F/S-G/S-S/N/T/Y/A-T/K/A/I-S/Y/N/H-YA-Q/D-K/S-F/V-K/Q-G (SEQ ID NO: 40)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列 GLWFGEGY (SEQ ID NO: 49)或 ESYGGQFDY (SEQ ID NO: 43)或DLVVPAATLDY (SEQ ID NO: 42)或 D/G-F/I-Y/I-E/V-A/G-G/P-G/T-W/D-Y/A-FD-L/I (SEQ ID NO: 51)或 RDGSLGVGYYYMDF (SEQ ID NO: 50)或 VGATTSLYYYYGMDV (SEQ ID NO: 47)或 DGFGGLAVAGPYWYFDL (SEQ ID NO: 44)或 PTRSRDFWSGLGYYYYMMDV (SEQ ID NO: 45)之CDR-H3。

9. 如實施例8之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該輕鏈可變結構域序列包括(1)包括選自由SEQ ID NO: 75至82組成之群之胺基酸序列之CDR-L1；(2)包括選自由SEQ ID NO: 54至59組成之群之胺基酸序列之CDR-L2；及(3)包括選自由SEQ ID NO: 63至71組成之群之胺基酸序列之CDR-L3；且重鏈可變結構域序列包括(1)包括選自由SEQ ID NO: 29至33及85組成之群之胺基酸序列之CDR-H1；(2)包括選自由SEQ ID NO: 35至39及125組成之群之胺基酸序列之CDR-H2；及(3)包括選自由SEQ ID NO: 42至50組成之群之胺基酸序列之CDR-

H3。

10. 如實施例1或2之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該輕鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列RSSQSLLHGNGNNYLD (SEQ ID NO: 75)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列LGSNRAS (SEQ ID NO: 54)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列MQALQTPYT (SEQ ID NO: 63)之CDR-L3；且重鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列 TYYMH (SEQ ID NO: 29)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列IINPSGGSTSYAQKFQG (SEQ ID NO: 36)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列DLVVPAATLDY (SEQ ID NO: 42)之CDR-H3。

11. 如實施例8或9之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該輕鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列RASQNIASYLN (SEQ ID NO: 76)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列AASSLKS (SEQ ID NO: 55)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列QQSYSIPYT (SEQ ID NO: 64)之CDR-L3；且重鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列SYGMH (SEQ ID NO: 30)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO: 37)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列ESYGGQFDY (SEQ ID NO: 43)之CDR-H3。

12. 如實施例8或9之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該輕鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列RASQSVSNNYLG (SEQ ID NO: 77)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列GASSRAT (SEQ ID NO: 56)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列QQRSNWPLT (SEQ ID NO: 65)之CDR-L3；且重鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列SYAMH (SEQ ID NO: 31)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO: 37)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列DGFGLAVAGPYWYFDL (SEQ ID NO: 44)之CDR-H3。

13. 如實施例8或9之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中

該輕鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列RSSQSLVYSDGKTYLD (SEQ ID NO: 78)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列KVSNRDS (SEQ ID NO: 57)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列MQGAHWPPPT (SEQ ID NO: 66)之CDR-L3；且重鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列SYAIS (SEQ ID NO: 85)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列GIIPIFGTANYAQKFQG (SEQ ID NO: 38)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列PTRSRDFWSGLGYYYMDV (SEQ ID NO: 45)之CDR-H3。

14. 如實施例8或9之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該輕鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO: 79)之CDR-L1；(2)包括GASSRAT (SEQ ID NO: 56)中所陳述之胺基酸序列之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列QQRSNWPPT (SEQ ID NO: 67)之CDR-L3；且重鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列SYGMH (SEQ ID NO: 30)之CDR-H1；(2)包括VISYDGSNKHYADSVKG (SEQ ID NO: 125)中所陳述之胺基酸序列之CDR-H2；及(3)包括DFYEAGGWYFDL (SEQ ID NO: 46)中所陳述之胺基酸序列之CDR-H3。

15. 如實施例8或9之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該輕鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列TRSRGSIASSYVQ (SEQ ID NO: 80)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列ENDQRPS (SEQ ID NO: 58)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列QSYDFSTVV (SEQ ID NO: 68)之CDR-L3；且重鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列SYAIS (SEQ ID NO: 85)之CDR-H1；(2)包括GIIPIFGTANYAQKFQG (SEQ ID NO: 38)中所陳述之胺基酸序列之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列VGATTSLYYYYGMDV (SEQ ID NO: 47)之CDR-H3。

16. 如實施例8或9之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中

該輕鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO: 79)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列GASSRAT (SEQ ID NO: 56)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列QQYGSSPGT (SEQ ID NO: 69)之CDR-L3；且重鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列SYSMN (SEQ ID NO: 28)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列SISSSSSYIYYADSVKG (SEQ ID NO: 35)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列GIIVGPTDAFDI (SEQ ID NO: 48)之CDR-H3。

17. 如實施例8或9之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該輕鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列RSSQSLYYRDGYTFLD (SEQ ID NO: 81)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列LSSKRDS (SEQ ID NO: 59)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列MQGTHWPYT (SEQ ID NO: 70)之CDR-L3；且重鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列TYAMS (SEQ ID NO: 33)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列GISGSGGATHYADSVKG (SEQ ID NO: 39)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列GLWFGEGY (SEQ ID NO: 49)之CDR-H3。

18. 如實施例8或9之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該輕鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列RSSQSLLYSNGYNYLD (SEQ ID NO: 82)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列LGSNRAS (SEQ ID NO: 54)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列MQALQTPIT (SEQ ID NO: 71)之CDR-L3；且重鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列SYAIS (SEQ ID NO: 85)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列GIIPIFGTANYAQKFQG (SEQ ID NO: 38)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列RDGSLGVGYYYMDF (SEQ ID NO: 50)之CDR-H3。

19. 一種抗血管內皮生長因子受體2 (VEGFR2)抗體或抗原結合片段，其係包括以下之抗VEGFR2抗體之變體：輕鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列QSLYYR-D/S-GYTF (SEQ ID NO: 22)

之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列L/Q/R-SS (SEQ ID NO: 23)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列M/L/F-QGTHWPYT (SEQ ID NO: 24)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列G/R-F-S/T/P-FSTYA (SEQ ID NO: 25)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列I-S/N-G-S/N-G/S-G/Q-A/T-T (SEQ ID NO: 26)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列KGLWFGEG-Y/L/I (SEQ ID NO: 27)之CDR-H3，其中該變體在SEQ ID NO: 22、23、24、25、26及/或27中之一或多者中包括至少一個胺基酸取代。

20. 一種競爭性抑制第二抗VEGFR2抗體至VEGFR2之結合之抗血管內皮生長因子受體2 (VEGFR2)抗體或其抗原結合片段，其中該第二抗VEGFR2抗體包括：輕鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列QSLYYR-D/S-GYTF (SEQ ID NO: 22)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列L/Q/R-SS (SEQ ID NO: 23)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列M/L/F-QGTHWPYT (SEQ ID NO: 24)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列G/R-F-S/T/P-FSTYA (SEQ ID NO: 25)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列I-S/N-G-S/N-G/S-G/Q-A/T-T (SEQ ID NO: 26)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列KGLWFGEG-Y/L/I (SEQ ID NO: 27)之CDR-H3。

21. 一種特異性結合至與第二抗VEGFR2抗體結合VEGFR2相同之VEGFR2表位之抗血管內皮生長因子受體2 (VEGFR2)抗體或其抗原結合片段，其中該第二抗VEGFR2抗體包括：輕鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列QSLYYR-D/S-GYTF (SEQ ID NO: 22)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列L/Q/R-SS (SEQ ID NO: 23)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列M/L/F-QGTHWPYT (SEQ ID NO: 24)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列G/R-F-S/T/P-FSTYA (SEQ ID NO: 25)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列I-S/N-G-S/N-

G/S-G/Q-A/T-T (SEQ ID NO: 26)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列KGLWFGEG-Y/L/I (SEQ ID NO: 27)之CDR-H3。

22. 如實施例20或21之抗VEGFR2抗體或抗原結合片段，其中該抗體包括：輕鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列QSLYYR-D/S-GYTF (SEQ ID NO: 22)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列L/Q/R-SS (SEQ ID NO: 23)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列M/L/F-QGTHWPYT (SEQ ID NO: 24)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列G/R-F-S/T/P-FSTYA (SEQ ID NO: 25)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列I-S/N-G-S/N-G/S-G/Q-A/T-T (SEQ ID NO: 26)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列KGLWFGEG-Y/L/I (SEQ ID NO: 27)之CDR-H3，其中該變體在SEQ ID NO: 22、23、24、25、26及/或27中之一或多者中包括至少一個胺基酸取代。

23. 如實施例20至22中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包括：輕鏈可變結構域序列，其包括(1)包括選自由SEQ ID NO: 1及16組成之群之胺基酸序列之CDR-L1；(2)包括選自由SEQ ID NO: 2、7及8組成之群之胺基酸序列之CDR-L2；及(3)包括選自由SEQ ID NO: 3、9及12組成之群之胺基酸序列之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括(1)包括選自由SEQ ID NO: 4、13、14及15組成之群之胺基酸序列之CDR-H1；(2)包括選自由SEQ ID NO: 5、7、17、18、19、20及21組成之群之胺基酸序列之CDR-H2；(3)包括選自由SEQ ID NO: 6、10及11組成之群之胺基酸序列之CDR-H3。

24. 如實施例20至22中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該輕鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO: 1)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列LSS (SEQ ID NO: 2)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列MQGTHWPYT (SEQ ID NO: 3)之CDR-L3；且重鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列

GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列ISGSGGAT (SEQ ID NO: 5)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 6)之CDR-H3。

25. 如實施例20至22中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包括：輕鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO:1)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列 QSS (SEQ ID NO: 7) 之 CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列 MQGTHWPYT (SEQ ID NO: 3)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列ISGSGGAT (SEQ ID NO: 5)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 6)之CDR-H3。

26. 如實施例20至22中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包括：輕鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO: 1)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列 QSS (SEQ ID NO: 7) 之 CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列 LQGTHWPYT (SEQ ID NO: 9)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列ISGSGGAT (SEQ ID NO: 5)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列KGLWFG EGL (SEQ ID NO: 10)之CDR-H3。

27. 如實施例20至22中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包括：輕鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO:1)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列 QSS (SEQ ID NO: 7) 之 CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列 FQGTHWPYT (SEQ ID NO: 12)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列ISGSGGAT (SEQ ID NO: 5)之CDR-H2；及(3)包括胺

基酸序列KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 6)之CDR-H3。

28. 如實施例20至22中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包括：輕鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO:1)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列 QSS (SEQ ID NO: 7) 之 CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列 LQGTHWPYT (SEQ ID NO: 9)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列ISGSGGAT (SEQ ID NO: 5)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 6)之CDR-H3。

29. 如實施例20至22中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包括：輕鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列QSLYYRSGYTF (SEQ ID NO: 16)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列 QSS (SEQ ID NO: 7) 之 CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列 MQGTHWPYT (SEQ ID NO: 3)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列RFSFSTYA (SEQ ID NO: 15)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列ISGSGQAT (SEQ ID NO: 20)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 6)之CDR-H3。

30. 如實施例20至22中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列QSLYYRSGYTF (SEQ ID NO: 16)之CDR-L1；包括胺基酸序列QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及包括胺基酸序列FQGTHWPYT (SEQ ID NO: 12)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；包括胺基酸序列ISGSGGTT (SEQ ID NO: 21)之CDR-H2；及包括胺基酸序列KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 6)之CDR-H3。

31. 如實施例20至22中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合

片段，其中該抗體包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列QSLYYRSGYTF (SEQ ID NO: 16)之CDR-L1；包括胺基酸序列QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及包括胺基酸序列FQGTHWPYT (SEQ ID NO: 12)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；包括胺基酸序列ISGSGGTT (SEQ ID NO: 21)之CDR-H2；及包括胺基酸序列KGLWFG EGL (SEQ ID NO: 10)之CDR-H3。

32. 如實施例1至31中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包括人類IgG之Fc序列。

33. 如實施例1至32中任一項之抗VEGFR2抗體之抗原結合片段，其中該抗原結合片段係選自由以下組成之群：Fab、Fab'、F(ab)'₂、單鏈Fv (scFv)、Fv片段、雙價抗體及線性抗體。

34. 如實施例1至33中任一項之抗VEGFR2抗體，其中該抗體係多特異性抗體。

35. 如實施例1至34中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其偶聯至治療劑。

36. 如實施例1至34中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其偶聯至標記。

37. 如實施例36之抗VEGFR2抗體，其中該標記係選自由以下組成之群：放射性同位素、螢光染劑及酶。

38. 一種經分離核酸分子，其編碼如實施例1至34中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段。

39. 一種表現載體，其編碼如實施例38之核酸分子。

40. 一種細胞，其包括如實施例39之表現載體。

41. 一種產生抗VEGFR2抗體之方法，其包括培養如實施例40之細胞且自細胞培養物回收該抗VEGFR2抗體。

42. 一種組合物，其包括如實施例1至35中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段及醫藥上可接受之載劑。

43. 一種檢測來自患者之試樣中之VEGFR2蛋白之方法，其係藉由使如實施例1至34及36至37中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段與該試樣接觸且檢測結合該VEGFR2蛋白之該抗VEGFR2抗體。

44. 如實施例43之方法，其中該抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段係用於免疫組織化學分析(IHC)或ELISA分析中。

45. 一種治療個體之特徵在於過度血管生成之病理學病狀之方法，該包括向該個體投與有效量之如實施例42之組合物。

46. 如實施例45之方法，其中該特徵在於過度血管生成之病理學病狀係選自由以下組成之群：癌症、眼部疾病或發炎。

47. 如實施例46之方法，其中該特徵在於過度血管生成之病理學病狀係癌症。

48. 如實施例47之方法，其中該癌症係結腸癌、結腸直腸癌、胃癌、胃食管癌、膀胱癌、肺癌或實體腫瘤。

49. 如實施例48之方法，其中該癌症係肺癌，且其中該肺癌係非小細胞肺癌(NSCLC)。

50. 如實施例45至49之方法，其中向該個體進一步投與選自由以下組成之群之治療劑：抗腫瘤劑、化學治療劑、生長抑制劑及細胞毒性劑。

【符號說明】

無

【序列表】

- <110> 姜偉東
林佩樺
曾琪鈴

<120> 抗血管內皮生長因子受體 2 (VEGFR2)抗體

<130> 719902000241

<140> Not Yet Assigned

<141> Concurrently Herewith

<150> 62/187,204

<151> 2015-06-30

<160> 125

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 1
Gln Ser Leu Tyr Tyr Arg Asp Gly Tyr Thr Phe
1 5 10

<210> 2

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 2
Leu Ser Ser
1

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 3
Met Gln Gly Thr His Trp Pro Tyr Thr
1 5

<210> 4

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列
- C198161SEQA.docx

- 1 -

<220>
<223> 合成構築體

<400> 4
Gly Phe Ser Phe Ser Thr Tyr Ala
1 5

<210> 5
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 5
Ile Ser Gly Ser Gly Ala Thr
1 5

<210> 6
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 6
Lys Gly Leu Trp Phe Gly Glu Gly Tyr
1 5

<210> 7
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 7
Gln Ser Ser
1

<210> 8
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 8
Arg Ser Ser
1

<210> 9
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 9

Leu Gln Gly Thr His Trp Pro Tyr Thr
1 5

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 10

Lys Gly Leu Trp Phe Gly Glu Gly Leu
1 5

<210> 11

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 11

Lys Gly Leu Trp Phe Gly Glu Gly Ile
1 5

<210> 12

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 12

Phe Gln Gly Thr His Trp Pro Tyr Thr
1 5

<210> 13

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 13

Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala
1 5

<210> 14

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 14
Gly Phe Pro Phe Ser Thr Tyr Ala
1 5

<210> 15
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 15
Arg Phe Ser Phe Ser Thr Tyr Ala
1 5

<210> 16
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 16
Gln Ser Leu Tyr Tyr Arg Ser Gly Tyr Thr Phe
1 5 10

<210> 17
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 17
Ile Asn Gly Ser Gly Gly Ala Thr
1 5

<210> 18
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 18
Ile Ser Gly Ser Ser Gly Ala Thr
1 5

<210> 19
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 19
Ile Ser Gly Asn Gly Gly Ala Thr

1 5

<210> 20
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 20
Ile Ser Gly Ser Gly Gln Ala Thr
1 5

<210> 21
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 21
Ile Ser Gly Ser Gly Gly Thr Thr
1 5

<210> 22
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> VARIANT
<222> 7
<223> Xaa = D 或 S

<400> 22
Gln Ser Leu Tyr Tyr Arg Xaa Gly Tyr Thr Phe
1 5 10

<210> 23
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> VARIANT
<222> 1
<223> Xaa = L, Q 或 R

<400> 23
Xaa Ser Ser
1

<210> 24
<211> 9

<212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成構築體
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> 1
 <223> Xaa = M, L 或 F
 <400> 24
 Xaa Gln Gly Thr His Trp Pro Tyr Thr
 1 5

<210> 25
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 1
 <223> Xaa = G 或 R

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 3
 <223> Xaa = S, T 或 P

<400> 25
 Xaa Phe Xaa Phe Ser Thr Tyr Ala
 1 5

<210> 26
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 2
 <223> Xaa = S 或 N

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 4
 <223> Xaa = S 或 N

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 5
 <223> Xaa = G 或 S

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 6
 <223> Xaa = G 或 Q

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 7
 <223> Xaa = A 或 T
 <400> 26
 Ile Xaa Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Thr
 1 5

<210> 27
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 9
 <223> Xaa = Y, L 或 I

<400> 27
 Lys Gly Leu Trp Phe Gly Glu Gly Xaa
 1 5

<210> 28
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 28
 Ser Tyr Ser Met Asn
 1 5

<210> 29
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 29
 Thr Tyr Tyr Met His
 1 5

<210> 30
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 30
 Ser Tyr Gly Met His
 1 5

<210> 31
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 合成構築體

 <400> 31
 Ser Tyr Ala Met His
 1 5

<210> 32
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 合成構築體

 <400> 32
 Ser Tyr Ser Met Asn
 1 5

<210> 33
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 合成構築體

 <400> 33
 Thr Tyr Ala Met Ser
 1 5

<210> 34
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 合成構築體

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 1
 <223> Xaa = T 或 S

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 3
 <223> Xaa = Y, G, A 或 S

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 4
 <223> Xaa = M 或 I

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 5
 <223> Xaa = H, N 或 S

<400> 34
Xaa Tyr Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 35
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 35
Ser Ile Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 36
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 36
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 37
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 37
Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 38
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 38
Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 39
<211> 17

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 39
Gly Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ala Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 40
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> VARIANT
<222> 1
<223> Xaa = I, V, G 或 S

<220>
<221> VARIANT
<222> 3
<223> Xaa = N, S 或 I

<220>
<221> VARIANT
<222> 4
<223> Xaa = P, Y, S 或 G

<220>
<221> VARIANT
<222> 5
<223> Xaa = S, D 或 I

<220>
<221> VARIANT
<222> 6
<223> Xaa = G, F 或 S

<220>
<221> VARIANT
<222> 7
<223> Xaa = G 或 S

<220>
<221> VARIANT
<222> 8
<223> Xaa = S, N, T, Y 或 A

<220>
<221> VARIANT
<222> 9
<223> Xaa = T, K, A 或 I

<220>
<221> VARIANT
<222> 10
<223> Xaa = S, Y, N 或 H

<220>

<221> VARIANT
<222> 13
<223> Xaa = Q 或 D

<220>
<221> VARIANT
<222> 14
<223> Xaa = K 或 S

<220>
<221> VARIANT
<222> 15
<223> Xaa = F 或 V

<220>
<221> VARIANT
<222> 16
<223> Xaa = K 或 Q

<400> 40
Xaa Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr Ala Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15
Gly

<210> 41
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 41
Val Thr Asp Ala Phe Asp Ile
1 5

<210> 42
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 42
Asp Leu Val Val Pro Ala Ala Thr Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 43
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 43
Glu Ser Tyr Gly Gly Gln Phe Asp Tyr
1 5

<210> 44
<211> 16

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 44
Asp Gly Phe Gly Leu Ala Val Ala Gly Pro Tyr Trp Tyr Phe Asp Leu
1 5 10 15

<210> 45
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 45
Pro Thr Arg Ser Arg Asp Phe Trp Ser Gly Leu Gly Tyr Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15
Met Asp Val

<210> 46
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 46
Asp Phe Tyr Glu Ala Gly Gly Trp Tyr Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 47
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 47
Val Gly Ala Thr Thr Ser Leu Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10 15

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

<220>
<223> 合成構築體

<400> 48
Gly Ile Ile Val Gly Pro Thr Asp Ala Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 49
<211> 8

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 49
Gly Leu Trp Phe Gly Glu Gly Tyr
1 5

<210> 50
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 50
Arg Asp Gly Ser Leu Gly Val Gly Tyr Tyr Tyr Met Asp Phe
1 5 10

<210> 51
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> VARIANT
<222> 1
<223> Xaa = D 或 G

<220>
<221> VARIANT
<222> 2
<223> Xaa = F 或 I

<220>
<221> VARIANT
<222> 3
<223> Xaa = Y 或 I

<220>
<221> VARIANT
<222> 4
<223> Xaa = E 或 V

<220>
<221> VARIANT
<222> 5
<223> Xaa = A 或 G

<220>
<221> VARIANT
<222> 6
<223> Xaa = G 或 P

<220>
<221> VARIANT
<222> 7
<223> Xaa = G 或 T

<220>
<221> VARIANT
<222> 8
<223> Xaa = W 或 D

<220>
<221> VARIANT
<222> 9
<223> Xaa = Y 或 A

<220>
<221> VARIANT
<222> 12
<223> Xaa = L 或 I

<400> 51
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Asp Xaa
1 5 10

<210> 52
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 52
Asp Ser Ser Asn Arg Ala Thr
1 5

<210> 53
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 53
Asp Ala Ser Asn Leu Asp Thr
1 5

<210> 54
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 54
Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser
1 5

<210> 55
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 55
Ala Ala Ser Ser Leu Lys Ser
1 5

<210> 56
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 56
Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

<210> 57
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 57
Lys Val Ser Asn Arg Asp Ser
1 5

<210> 58
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 58
Glu Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 59
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 59
Leu Ser Ser Lys Arg Asp Ser
1 5

<210> 60
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> VARIANT

<222> 1
<223> Xaa = L, A, G, K 或 E

<220>
<221> VARIANT
<222> 2
<223> Xaa = G, A, V, N 或 S

<220>
<221> VARIANT
<222> 3
<223> Xaa = S 或 D

<220>
<221> VARIANT
<222> 4
<223> Xaa = N, S, Q 或 K

<220>
<221> VARIANT
<222> 5
<223> Xaa = R 或 L

<220>
<221> VARIANT
<222> 6
<223> Xaa = A, K, D 或 P

<220>
<221> VARIANT
<222> 7
<223> Xaa = S 或 T

<400> 60
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 61
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 61
Leu Gln His Asn Thr Phe Pro Pro Thr
1 5

<210> 62
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 62
Gln Gln Ala Lys Ala Phe Pro Pro Thr
1 5

<210> 63
<211> 9
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 63

Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 64

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 64

Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Pro Tyr Thr
1 5

<210> 65

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 65

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu Thr
1 5

<210> 66

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 66

Met Gln Gly Ala His Trp Pro Pro Thr
1 5

<210> 67

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 67

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro Thr
1 5

<210> 68

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220> 合成構築體
<223>

<400> 68
Gln Ser Tyr Asp Phe Ser Thr Val Val
1 5

<210> 69
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 69
Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Gly Thr
1 5

<210> 70
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 70
Met Gln Gly Thr His Trp Pro Tyr Thr
1 5

<210> 71
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 71
Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Ile Thr
1 5

<210> 72
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> VARIANT
<222> 1
<223> Xaa = M 或 Q

<220>
<221> VARIANT
<222> 2
<223> Xaa = Q 或 S

<220>
<221> VARIANT

<222> 3
<223> Xaa = A, S, R, G 或 Y

<220>
<221> VARIANT
<222> 4
<223> Xaa = L, Y, S, A, D, G 或 T

<220>
<221> VARIANT
<222> 5
<223> Xaa = Q, S, N, H 或 F

<220>
<221> VARIANT
<222> 6
<223> Xaa = T, I, W 或 S

<220>
<221> VARIANT
<222> 7
<223> Xaa = P 或 T

<220>
<221> VARIANT
<222> 8
<223> Xaa = Y, L, P, V, G 或 I

<220>
<221> VARIANT
<222> 9
<223> Xaa = T 或 V

<400> 72
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 73
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 73
Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 74
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 74
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Asp Asn Trp Leu Gly
1 5 10

<210> 75
<211> 16
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 75

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Gly Asn Gly Asn Asn Tyr Leu Asp
1 5 10 15

<210> 76

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 76

Arg Ala Ser Gln Asn Ile Ala Ser Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 77

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 77

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asn Tyr Leu Gly
1 5 10

<210> 78

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 78

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Tyr Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asp
1 5 10 15

<210> 79

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 79

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 80

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 80
Thr Arg Ser Arg Gly Ser Ile Ala Ser Ser Tyr Val Gln
1 5 10

<210> 81
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 81
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Tyr Tyr Arg Asp Gly Tyr Thr Phe Leu Asp
1 5 10 15

<210> 82
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 82
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
1 5 10 15

<210> 83
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> VARIANT
<222> 8
<223> Xaa = S 或 N

<220>
<221> VARIANT
<222> 9
<223> Xaa = S 或 N

<220>
<221> VARIANT
<222> 12
<223> Xaa = G 或 A

<400> 83
Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Xaa Xaa Tyr Leu Xaa
1 5 10

<210> 84
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> VARIANT
<222> 7
<223> Xaa = L, V 或 Y

<220>
<221> VARIANT
<222> 8
<223> Xaa = H 或 Y

<220>
<221> VARIANT
<222> 9
<223> Xaa = G, S 或 R

<220>
<221> VARIANT
<222> 10
<223> Xaa = D 或 N

<220>
<221> VARIANT
<222> 12
<223> Xaa = N, K 或 Y

<220>
<221> VARIANT
<222> 13
<223> Xaa = N 或 T

<220>
<221> VARIANT
<222> 14
<223> Xaa = Y 或 F

<400> 84
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Xaa Xaa Xaa Leu Asp
1 5 10 15

<210> 85
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 85
Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 86
<211> 163
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 86
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

```

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

```

<210> 87
 <211> 158
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

```

<400> 87
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
  1      5      10      15
Asp Arg Val Thr Val Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile Ala Ser Tyr
      20      25      30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
      35      40      45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Lys Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
      50      55      60
Ser Gly Ser Gly Arg Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
      65      70      75      80
Glu Asp Phe Ala Ala Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Pro Tyr
      85      90      95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
      100      105      110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
      115      120      125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
      130      135      140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Leu Gly Asn
      145      150      155

```

<210> 88
 <211> 159
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

```

<400> 88
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
  1      5      10      15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asn
      20      25      30
Tyr Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

```

35 40 45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro
85 90 95
Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110
Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125
Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140
Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn
145 150 155

<210> 89
<211> 163
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 89
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Tyr Ser
20 25 30
Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asp Trp Phe Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Asp Ser Gly Val Ser
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gly
85 90 95
Ala His Trp Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Val Glu Ile Lys
100 105 110
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160
Ser Gly Asn

<210> 90
<211> 159
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 90
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Arg Ser Asn Trp Pro
85 90 95
Pro Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110
Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125
Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140
Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn
145 150 155

<210> 91
<211> 162
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 91
Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro His Ser Val Ser Glu Ser Pro Gly Lys
1 5 10 15
Thr Val Thr Val Ser Cys Thr Arg Ser Arg Gly Ser Ile Ala Ser Ser
20 25 30
Tyr Val Gln Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Arg Ser Pro Thr Asn Val
35 40 45
Ile Tyr Glu Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Thr Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Val Asp Arg Ser Ser Asn Ser Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly
65 70 75 80
Leu Glu Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Phe
85 90 95
Ser Thr Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Gln
100 105 110
Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
115 120 125
Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
130 135 140
Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys
145 150 155 160
Ala Gly

<210> 92
<211> 159
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 92
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Val Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro

85 90 95
Gly Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110
Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125
Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140
Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn
145 150 155

<210> 93
<211> 163
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 93
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
1 5 10 15
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Tyr Tyr Arg
20 25 30
Asp Gly Tyr Thr Phe Leu Asp Trp Tyr Val Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Ser Ser Lys Arg Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Ile Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Arg Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gly
85 90 95
Thr His Trp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160
Ser Gly Asn

<210> 94
<211> 163
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 94
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Ala Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95
Leu Gln Thr Pro Ile Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160
Ser Gly Asn

<210> 95
<211> 158
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 95
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Arg Ala Ser Gly Phe Ser Phe Thr Thr Tyr
20 25 30
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Leu Val Val Pro Ala Ala Thr Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155

<210> 96
<211> 156
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 96
Glu Val Gln Leu Val Gln Thr Gly Gly Gly Ala Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Thr Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Glu Ser Tyr Gly Gly Gln Phe Asp Tyr Trp Gly Pro Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly

130 135 140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155

<210> 97
<211> 163
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 97
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Gly Phe Gly Leu Ala Val Ala Gly Pro Tyr Trp Tyr Phe
100 105 110
Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
115 120 125
Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
130 135 140
Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
145 150 155 160
Pro Val Thr

<210> 98
<211> 166
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 98
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Gly Pro Thr Arg Ser Arg Asp Phe Trp Ser Gly Leu Gly Tyr Tyr
100 105 110
Tyr Tyr Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
130 135 140
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
145 150 155 160

Phe Pro Glu Pro Val Thr
165

<210> 99
<211> 159
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 99
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys His Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Phe Tyr Glu Ala Gly Gly Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110
Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155

<210> 100
<211> 161
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 100
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
50 55 60
Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met
65 70 75 80
Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Val Gly Ala Thr Thr Ser Leu Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125
Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
130 135 140
Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160
Thr

<210> 101
<211> 159
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 101
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Ile Ile Val Gly Pro Thr Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155

<210> 102
<211> 155
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 102
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Thr Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ala Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Asn
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Gly Leu Trp Phe Gly Glu Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155

<210> 103
<211> 160
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 103

```

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

```

<210> 104

<211> 158

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>

<400> 104

```

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

```

<210> 105

<211> 158

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 105

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

<210> 106
<211> 154
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 106
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Val Thr Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125
Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140
Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150

<210> 107
<211> 163
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 107
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
1 5 10 15
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Tyr Tyr Arg
20 25 30
Asp Gly Tyr Thr Phe Leu Asp Trp Tyr Val Gln Lys Pro Gly Gln Ser

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

<210> 108
<211> 163
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 108
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
1 5 10 15
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Tyr Tyr Arg
20 25 30
Asp Gly Tyr Thr Phe Leu Asp Trp Tyr Val Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Ser Ser Lys Arg Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Ile Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Arg Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gly
85 90 95
Thr His Trp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160
Ser Gly Asn

<210> 109
<211> 163
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 109
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
1 5 10 15
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Tyr Tyr Arg
20 25 30
Asp Gly Tyr Thr Phe Leu Asp Trp Tyr Val Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

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

<210> 110
<211> 163
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 110
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
1 5 10 15
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Tyr Tyr Arg
20 25 30
Asp Gly Tyr Thr Phe Leu Asp Trp Tyr Val Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Ser Ser Lys Arg Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Ile Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Arg Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Gly
85 90 95
Thr His Trp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160
Ser Gly Asn

<210> 111
<211> 163
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 111
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
1 5 10 15
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Tyr Tyr Arg
20 25 30
Asp Gly Tyr Thr Phe Leu Asp Trp Tyr Val Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Ser Ser Lys Arg Asp Ser Gly Val Pro

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

<210> 112
 <211> 163
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 112					
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly					
1	5	10	15		
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Tyr Tyr Arg					
	20	25	30		
Ser Gly Tyr Thr Phe Leu Asp Trp Tyr Val Gln Lys Pro Gly Gln Ser					
	35	40	45		
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Ser Ser Lys Arg Asp Ser Gly Val Pro					
	50	55	60		
Asp Arg Ile Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Arg Ile					
65	70	75	80		
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gly					
	85	90	95		
Thr His Trp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys					
	100	105	110		
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu					
	115	120	125		
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe					
	130	135	140		
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln					
145	150	155	160		
Ser Gly Asn					

<210> 113
 <211> 163
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 113					
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly					
1	5	10	15		
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Tyr Tyr Arg					
	20	25	30		
Ser Gly Tyr Thr Phe Leu Asp Trp Tyr Val Gln Lys Pro Gly Gln Ser					
	35	40	45		
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Ser Ser Lys Arg Asp Ser Gly Val Pro					
	50	55	60		

Asp Arg Ile Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Arg Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95
Thr His Trp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160
Ser Gly Asn

<210> 114
<211> 155
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 114
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Thr Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ala Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Asn
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Gly Leu Trp Phe Gly Glu Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155

<210> 115
<211> 155
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

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

				85						90					95				
Ala	Lys	Gly	Leu	Trp	Phe	Gly	Glu	Gly	Leu	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu				
			100						105				110						
Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu				
		115					120					125							
Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys				
	130					135					140								
Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr									
145					150					155									

<210> 116
 <211> 155
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

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

<210> 117
 <211> 155
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

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

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 130 135 140
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155

<210> 118
 <211> 155
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 118
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Gly Ile Asn Gly Ser Gly Gly Ala Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Asn
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Gly Leu Trp Phe Gly Glu Gly Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 130 135 140
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155

<210> 119
 <211> 155
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體

<400> 119
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Gly Ile Ser Gly Ser Ser Gly Ala Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Asn
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Gly Leu Trp Phe Gly Glu Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 130 135 140
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155

<210> 120
<211> 155
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 120
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Thr Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Ser Gly Ser Ser Gly Ala Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Asn
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Gly Leu Trp Phe Gly Glu Gly Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155

<210> 121
<211> 155
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 121
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Pro Phe Ser Thr Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Ser Gly Asn Gly Gly Ala Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Asn
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Gly Leu Trp Phe Gly Glu Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155

<210> 122
<211> 155
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 122
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Arg Phe Ser Phe Ser Thr Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Ser Gly Ser Gly Gln Ala Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Asn
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Gly Leu Trp Phe Gly Glu Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155

<210> 123
<211> 155
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 123
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Thr Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Ser Gly Ser Gly Thr Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Asn
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Gly Leu Trp Phe Gly Glu Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155

<210> 124
<211> 155
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 124

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

<210> 125
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 125
Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys His Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

申請專利範圍

1. 一種抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段不阻斷VEGFR2至VEGF之結合。
2. 一種抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合VEGFR2之結構域5至7。
3. 一種抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段不阻斷VEGFR2至VEGF之結合，且其中該抗體或其抗原結合片段結合VEGFR2之結構域5至7。
4. 如請求項1至3中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該抗體結合至全HUVEC細胞。
5. 如請求項1至4中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段不抑制活體外血管生成。
6. 如請求項1至4中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段抑制活體內血管生成。
7. 如請求項1至4中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段不抑制活體外血管生成，且其中該抗體或其抗原結合片段抑制活體內血管生成。
8. 一種抗血管內皮生長因子受體2 (VEGFR2)抗體或其抗原結合片段，其包括：輕鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列 RASQNIASYLN (SEQ ID NO: 76)或RASQSVS-S/N-S/N-YL-G/A (SEQ ID NO: 83)或 TRSRGSIASSYVQ (SEQ ID NO: 80) 或 RSSQSL-L/V/Y-H/Y-G/S/R-D/N-G-N/K/Y-N/T-Y/F-LD (SEQ ID NO: 84)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列 L/A/G/K/E-G/A/V/N/S-S/D-N/S/Q/K-R/L-A/K/D/P-S/T (SEQ ID NO: 60)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列 M/Q-Q/S-A/S/R/G/Y-L/Y/S/A/D/G/T-

Q/S/N/H/F-T/I/W/S-P/T-Y/L/P/V/G/I-T/V (SEQ ID NO: 72)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列T/S-Y-Y/G/A/S-M/I-H/N/S (SEQ ID NO: 34)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列 I/V/G/S-I-N/S/I-P/Y/S/G-S/D/I-G/F/S-G/S-S/N/T/Y/A-T/K/A/I-S/Y/N/H-YA-Q/D-K/S-F/V-K/Q-G (SEQ ID NO: 40)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列GLWFGEGY (SEQ ID NO: 49)或ESYGGQFDY (SEQ ID NO: 43)或DLVVPAATLDY (SEQ ID NO: 42)或D/G-F/I-Y/I-E/V-A/G-G/P-G/T-W/D-Y/A-FD-L/I (SEQ ID NO: 51)或RDGSLGVGYYYMDF (SEQ ID NO: 50)或VGATTSLYYYYGMDV (SEQ ID NO: 47)或DGFGGLAVAGPYWYFDL (SEQ ID NO: 44)或PTRSRDFWSGLGYYYMMDV (SEQ ID NO: 45)之CDR-H3。

9. 如請求項8之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該輕鏈可變結構域序列包括(1)包括選自由SEQ ID NO: 75至82組成之群之胺基酸序列之CDR-L1；(2)包括選自由SEQ ID NO: 54至59組成之群之胺基酸序列之CDR-L2；及(3)包括選自由SEQ ID NO: 63至71組成之群之胺基酸序列之CDR-L3；且重鏈可變結構域序列包括(1)包括選自由SEQ ID NO: 29至33及85組成之群之胺基酸序列之CDR-H1；(2)包括選自由SEQ ID NO: 35至39及125組成之群之胺基酸序列之CDR-H2；及(3)包括選自由SEQ ID NO: 42至50組成之群之胺基酸序列之CDR-H3。
10. 如請求項1或2之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該輕鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列RSSQSLLHGNGNNYLD (SEQ ID NO: 75)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列LGSNRAS (SEQ ID NO: 54)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列MQALQTPYT (SEQ ID NO: 63)之CDR-L3；且重鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基

酸序列TYYM^H (SEQ ID NO: 29)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列IINPSGGSTSYAQKFQG (SEQ ID NO: 36)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列DLVVPAATLDY (SEQ ID NO: 42)之CDR-H3。

11. 如請求項8或9之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該輕鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列RASQNIASYLN (SEQ ID NO: 76)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列AASSLKS (SEQ ID NO: 55)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列QQSYSIPYT (SEQ ID NO: 64)之CDR-L3；且重鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列SYGMH (SEQ ID NO: 30)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO: 37)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列ESYGGQFDY (SEQ ID NO: 43)之CDR-H3。
12. 如請求項8或9之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該輕鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列RASQSVSNNYLG (SEQ ID NO: 77)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列GASSRAT (SEQ ID NO: 56)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列QQRSNWPLT (SEQ ID NO: 65)之CDR-L3；且重鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列SYAMH (SEQ ID NO: 31)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO: 37)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列DGFG^LAVAGPYWYFDL (SEQ ID NO: 44)之CDR-H3。
13. 如請求項8或9之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該輕鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列RSSQSLVYSDGKTYLD (SEQ ID NO: 78)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列KVSNRDS (SEQ ID NO: 57)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列MQGAHWPPT (SEQ ID NO: 66)之CDR-L3；且重鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列SYAIS (SEQ ID NO: 85)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列

GIIPFGTANYAQKFQG (SEQ ID NO: 38)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列PTRSRDFWSGLGYYYMDV(SEQ ID NO: 45)之CDR-H3。

14. 如請求項8或9之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該輕鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO: 79)之CDR-L1；(2)包括GASSRAT (SEQ ID NO: 56)中所陳述之胺基酸序列之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列QQRSNWPPT (SEQ ID NO: 67)之CDR-L3；且重鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列SYGMH (SEQ ID NO: 30)之CDR-H1；(2)包括VISYDGSNKHYADSVKG (SEQ ID NO: 125)中所示胺基酸序列之CDR-H2；及(3)包括DFYEAGGWYFDL (SEQ ID NO: 46)中所示胺基酸序列之CDR-H3。
15. 如請求項8或9之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該輕鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列TRSRGSIASSYVQ (SEQ ID NO: 80)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列ENDQRPS (SEQ ID NO: 58)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列QSYDFSTVV (SEQ ID NO: 68)之CDR-L3；且重鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列SYAIS (SEQ ID NO: 85)之CDR-H1；(2)包括GIIPFGTANYAQKFQG (SEQ ID NO: 38)中所示胺基酸序列之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列VGATTSLYYYGMDV (SEQ ID NO: 47)之CDR-H3。
16. 如請求項8或9之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該輕鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO: 79)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列GASSRAT (SEQ ID NO: 56)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列QQYGSSPGT (SEQ ID NO: 69)之CDR-L3；且重鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序

列 SYSMN (SEQ ID NO: 28)之 CDR-H1 ; (2)包括胺基酸序列 SISSSSSYIYYADSVKG (SEQ ID NO: 35)之 CDR-H2 ; 及(3)包括胺基酸序列 GIIVGPTDAFDI (SEQ ID NO: 48)之 CDR-H3 。

17. 如請求項8或9之抗 VEGFR2 抗體或其抗原結合片段，其中該輕鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列 RSSQSLYYRDGYTFLD (SEQ ID NO: 81)之 CDR-L1 ; (2)包括胺基酸序列 LSSKRDS (SEQ ID NO: 59)之 CDR-L2 ; 及(3)包括胺基酸序列 MQGTHWPYT (SEQ ID NO: 70)之 CDR-L3 ; 且重鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列 TYAMS (SEQ ID NO: 33)之 CDR-H1 ; (2)包括胺基酸序列 GISGSGGATHYADSVKG (SEQ ID NO: 39)之 CDR-H2 ; 及(3)包括胺基酸序列 GLWFGEGY (SEQ ID NO: 49)之 CDR-H3 。
18. 如請求項8或9之抗 VEGFR2 抗體或其抗原結合片段，其中該輕鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列 RSSQSLLYSNGYNYLD (SEQ ID NO: 82)之 CDR-L1 ; (2)包括胺基酸序列 LGSNRAS (SEQ ID NO: 54)之 CDR-L2 ; 及(3)包括胺基酸序列 MQALQTPIT (SEQ ID NO: 71)之 CDR-L3 ; 且重鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列 SYAIS (SEQ ID NO: 85)之 CDR-H1 ; (2)包括胺基酸序列 GHIPIFGTANYAQKFQG (SEQ ID NO: 38)之 CDR-H2 ; 及(3)包括胺基酸序列 RDGSLGVGYYYMDF (SEQ ID NO: 50)之 CDR-H3 。
19. 一種抗血管內皮生長因子受體 2 (VEGFR2) 抗體或抗原結合片段，其係包括以下之抗 VEGFR2 抗體之變體：輕鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列 QSLYYR-D/S-GYTF (SEQ ID NO: 22)之 CDR-L1 ; (2)包括胺基酸序列 L/Q/R-SS (SEQ ID NO: 23)之 CDR-L2 ; 及(3)包括胺基酸序列 M/L/F-QGTHWPYT (SEQ ID NO: 24)之 CDR-L3 ; 及重鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列 G/R-F-S/T/P-FSTYA (SEQ ID NO: 25)之 CDR-H1 ; (2)包括胺

基酸序列I-S/N-G-S/N-G/S-G/Q-A/T-T (SEQ ID NO: 26)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列KGLWFGEG-Y/L/I (SEQ ID NO: 27)之CDR-H3，其中該變體在SEQ ID NO: 22、23、24、25、26及/或27中之一或多者中包括至少一個胺基酸取代。

20. 一種競爭性抑制第二抗VEGFR2抗體至VEGFR2之結合之抗血管內皮生長因子受體2 (VEGFR2)抗體或其抗原結合片段，其中該第二抗VEGFR2抗體包括：輕鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列QSLYYR-D/S-GYTF (SEQ ID NO: 22)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列L/Q/R-SS (SEQ ID NO: 23)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列M/L/F-QGTHWPYT (SEQ ID NO: 24)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列G/R-F-S/T/P-FSTYA (SEQ ID NO: 25)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列I-S/N-G-S/N-G/S-G/Q-A/T-T (SEQ ID NO: 26)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列KGLWFGEG-Y/L/I (SEQ ID NO: 27)之CDR-H3。
21. 一種特異性結合至與第二抗VEGFR2抗體結合VEGFR2相同之VEGFR2表位之抗血管內皮生長因子受體2 (VEGFR2)抗體或其抗原結合片段，其中該第二抗VEGFR2抗體包括：輕鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列QSLYYR-D/S-GYTF (SEQ ID NO: 22)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列L/Q/R-SS (SEQ ID NO: 23)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列M/L/F-QGTHWPYT (SEQ ID NO: 24)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列G/R-F-S/T/P-FSTYA (SEQ ID NO: 25)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列I-S/N-G-S/N-G/S-G/Q-A/T-T (SEQ ID NO: 26)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列KGLWFGEG-Y/L/I (SEQ ID NO: 27)之CDR-H3。
22. 如請求項20或21之抗VEGFR2抗體或抗原結合片段，其中該抗體

包括：輕鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列 QSLYYR-D/S-GYTF (SEQ ID NO: 22)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列L/Q/R-SS (SEQ ID NO: 23)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列M/L/F-QGTHWPYT (SEQ ID NO: 24)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列 G/R-F-S/T/P-FSTYA (SEQ ID NO: 25)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列I-S/N-G-S/N-G/S-G/Q-A/T-T (SEQ ID NO: 26)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列KGLWFGEG-Y/L/I (SEQ ID NO: 27)之CDR-H3，其中該變體在 SEQ ID NO: 22、23、24、25、26及/或27中之一或多者中包括至少一個胺基酸取代。

23. 如請求項20至22中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包括：輕鏈可變結構域序列，其包括(1)包括選自由 SEQ ID NO: 1及16組成之群之胺基酸序列之CDR-L1；(2)包括選自由SEQ ID NO: 2、7及8組成之群之胺基酸序列之CDR-L2；及(3)包括選自由SEQ ID NO: 3、9及12組成之群之胺基酸序列之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括(1)包括選自由SEQ ID NO: 4、13、14及15組成之群之胺基酸序列之CDR-H1；(2)包括選自由SEQ ID NO: 5、7、17、18、19、20及21組成之群之胺基酸序列之CDR-H2；(3)包括選自由SEQ ID NO: 6、10及11組成之群之胺基酸序列之CDR-H3。
24. 如請求項20至22中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該輕鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列 QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO: 1)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列 LSS (SEQ ID NO: 2)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列 MQGTHWPYT (SEQ ID NO: 3)之CDR-L3；且重鏈可變結構域序列包括(1)包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-

H1；(2)包括胺基酸序列ISGSGGAT (SEQ ID NO: 5)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 6)之CDR-H3。

25. 如請求項20至22中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包括：輕鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO:1)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列MQGTHWPYT (SEQ ID NO: 3)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列ISGSGGAT (SEQ ID NO: 5)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 6)之CDR-H3。
26. 如請求項20至22中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包括：輕鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO:1)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列LQGTHWPYT (SEQ ID NO: 9)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列ISGSGGAT (SEQ ID NO: 5)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 10)之CDR-H3。
27. 如請求項20至22中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包括：輕鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO:1)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列FQGTHWPYT (SEQ ID NO: 12)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之

CDR-H1；(2)包括胺基酸序列ISGSGGAT (SEQ ID NO: 5)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 6)之CDR-H3。

28. 如請求項20至22中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包括：輕鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列QSLYYRDGYTF (SEQ ID NO:1)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列LQGTHWPYT (SEQ ID NO: 9)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列ISGSGGAT (SEQ ID NO: 5)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 6)之CDR-H3。

29. 如請求項20至22中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包括：輕鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列QSLYYRSGYTF (SEQ ID NO: 16)之CDR-L1；(2)包括胺基酸序列QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及(3)包括胺基酸序列MQGTHWPYT (SEQ ID NO: 3)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括(1)包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 15)之CDR-H1；(2)包括胺基酸序列ISGSGGAT (SEQ ID NO: 20)之CDR-H2；及(3)包括胺基酸序列KGLWFGEGY (SEQ ID NO: 6)之CDR-H3。

30. 如請求項20至22中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列QSLYYRSGYTF (SEQ ID NO: 16)之CDR-L1；包括胺基酸序列QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及包括胺基酸序列FQGTHWPYT (SEQ ID NO: 12)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序

列，其包括包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；包括胺基酸序列ISGSGGTT (SEQ ID NO: 21)之CDR-H2；及包括胺基酸序列KGLWFG EGL (SEQ ID NO: 6)之CDR-H3。

31. 如請求項20至22中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包括：輕鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列QSLYYRSGYTF (SEQ ID NO: 16)之CDR-L1；包括胺基酸序列QSS (SEQ ID NO: 7)之CDR-L2；及包括胺基酸序列FQGTHWPYT (SEQ ID NO: 12)之CDR-L3；及重鏈可變結構域序列，其包括包括胺基酸序列GFSFSTYA (SEQ ID NO: 4)之CDR-H1；包括胺基酸序列ISGSGGTT (SEQ ID NO: 21)之CDR-H2；及包括胺基酸序列KGLWFG EGL (SEQ ID NO: 10)之CDR-H3。
32. 如請求項1至31中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包括人類IgG之Fc序列。
33. 如請求項1至32中任一項之抗VEGFR2抗體之抗原結合片段，其中該抗原結合片段係選自由以下組成之群：Fab、Fab'、F(ab)'2、單鏈Fv (scFv)、Fv片段、雙價抗體及線性抗體。
34. 如請求項1至33中任一項之抗VEGFR2抗體，其中該抗體係多特异性抗體。
35. 如請求項1至34中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其偶聯至治療劑。
36. 如請求項1至34中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段，其偶聯至標記。
37. 如請求項36之抗VEGFR2抗體，其中該標記係選自由以下組成之群：放射性同位素、螢光染劑及酶。
38. 一種經分離核酸分子，其編碼如請求項1至34中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段。

39. 一種表現載體，其編碼如請求項38之核酸分子。
40. 一種細胞，其包括如請求項39之表現載體。
41. 一種產生抗VEGFR2抗體之方法，其包括培養如請求項40之細胞且自細胞培養物回收該抗VEGFR2抗體。
42. 一種組合物，其包括如請求項1至35中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段及醫藥上可接受之載劑。
43. 一種檢測來自患者之試樣中之VEGFR2蛋白之方法，其係藉由使如請求項1至34及36至37中任一項之抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段與該試樣接觸，及檢測結合該VEGFR2蛋白之該抗VEGFR2抗體。
44. 如請求項43之方法，其中該抗VEGFR2抗體或其抗原結合片段係用於免疫組織化學分析(IHC)或ELISA分析。
45. 一種治療個體之特徵在於過度血管生成之病理學病狀之方法，其包括向該個體投與有效量之如請求項42之組合物。
46. 如請求項45之方法，其中該特徵在於過度血管生成之病理學病狀係選自由以下組成之群：癌症、眼部疾病或發炎。
47. 如請求項46之方法，其中該特徵在於過度血管生成之病理學病狀係癌症。
48. 如請求項47之方法，其中該癌症係結腸癌、結腸直腸癌、胃癌、胃食管癌、膀胱癌、肺癌或實體腫瘤。
49. 如請求項48之方法，其中該癌症係肺癌，且其中該肺癌係非小細胞肺癌(non-small cell lung cancer；NSCLC)。
50. 如請求項45至49之方法，其中向該個體進一步投與選自由以下組成之群之治療劑：抗腫瘤劑、化學治療劑、生長抑制劑及細胞毒性劑。

圖式

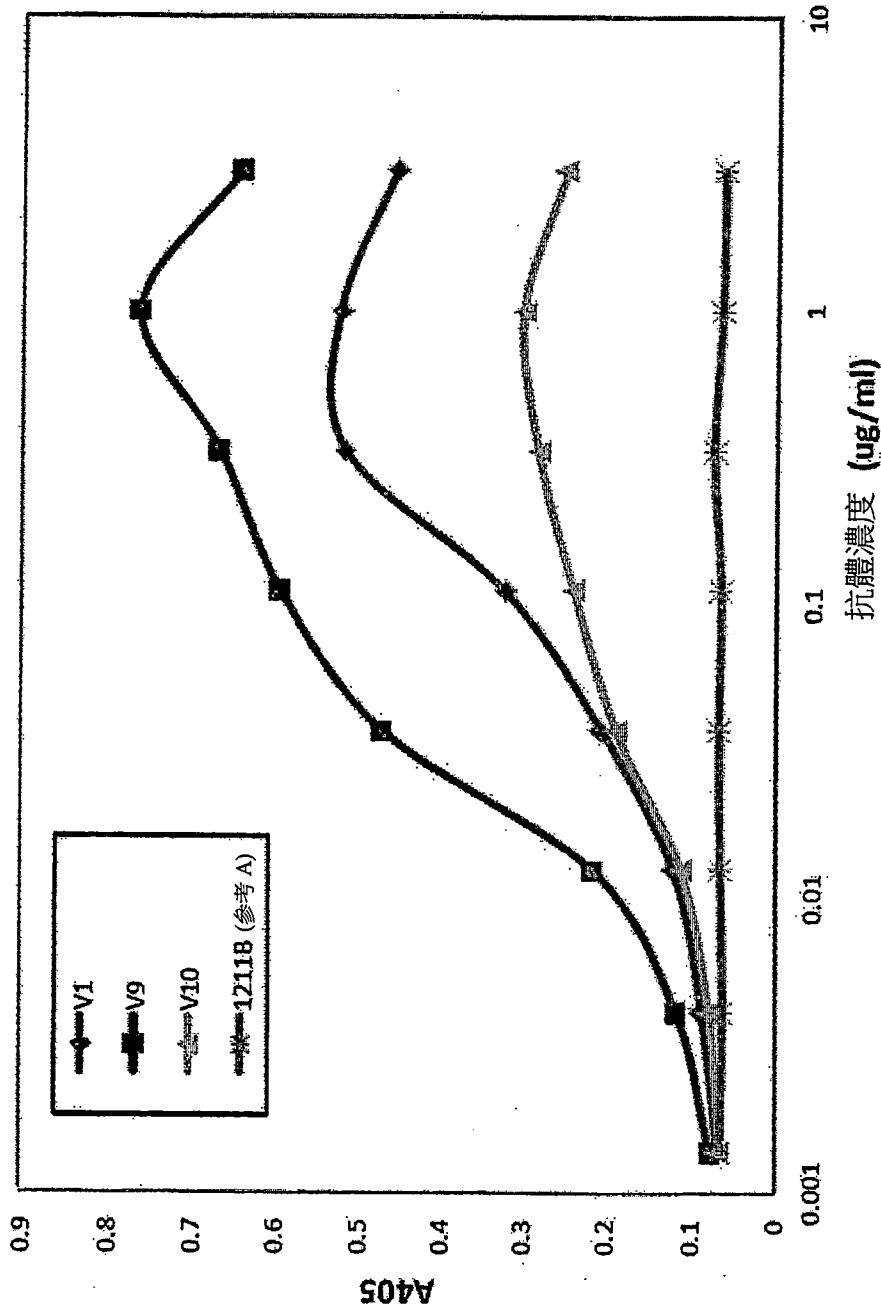


圖 1

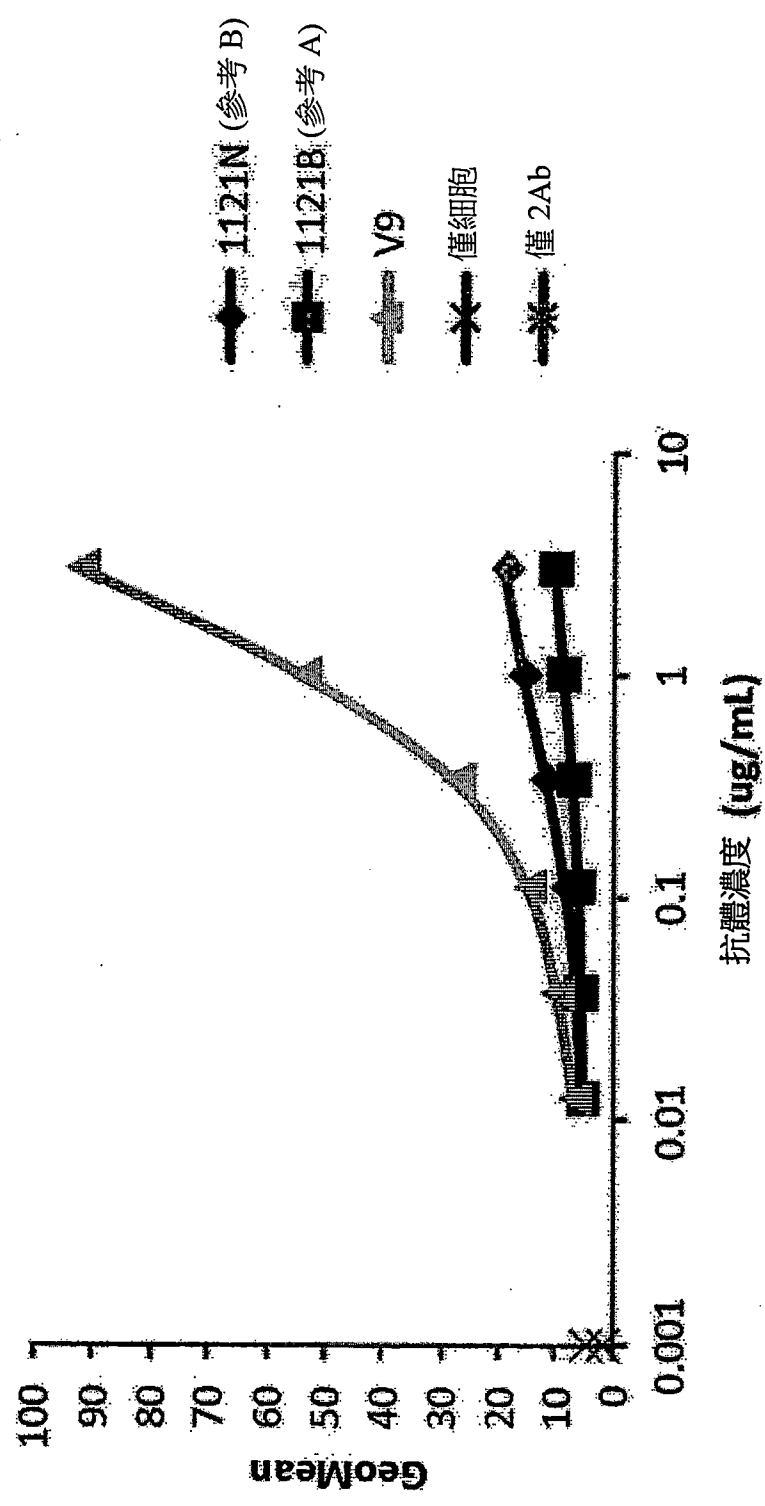


圖 3

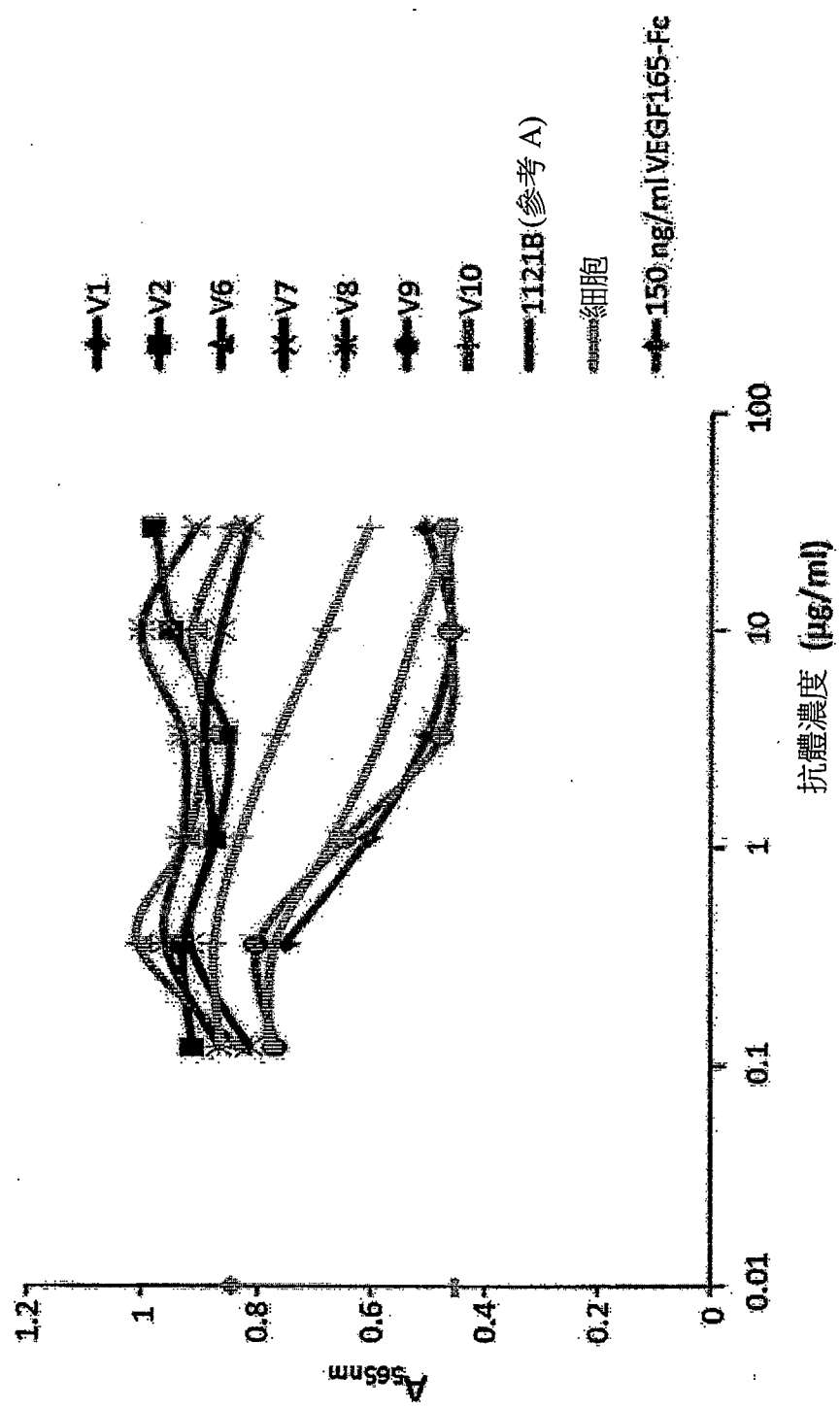


圖 5

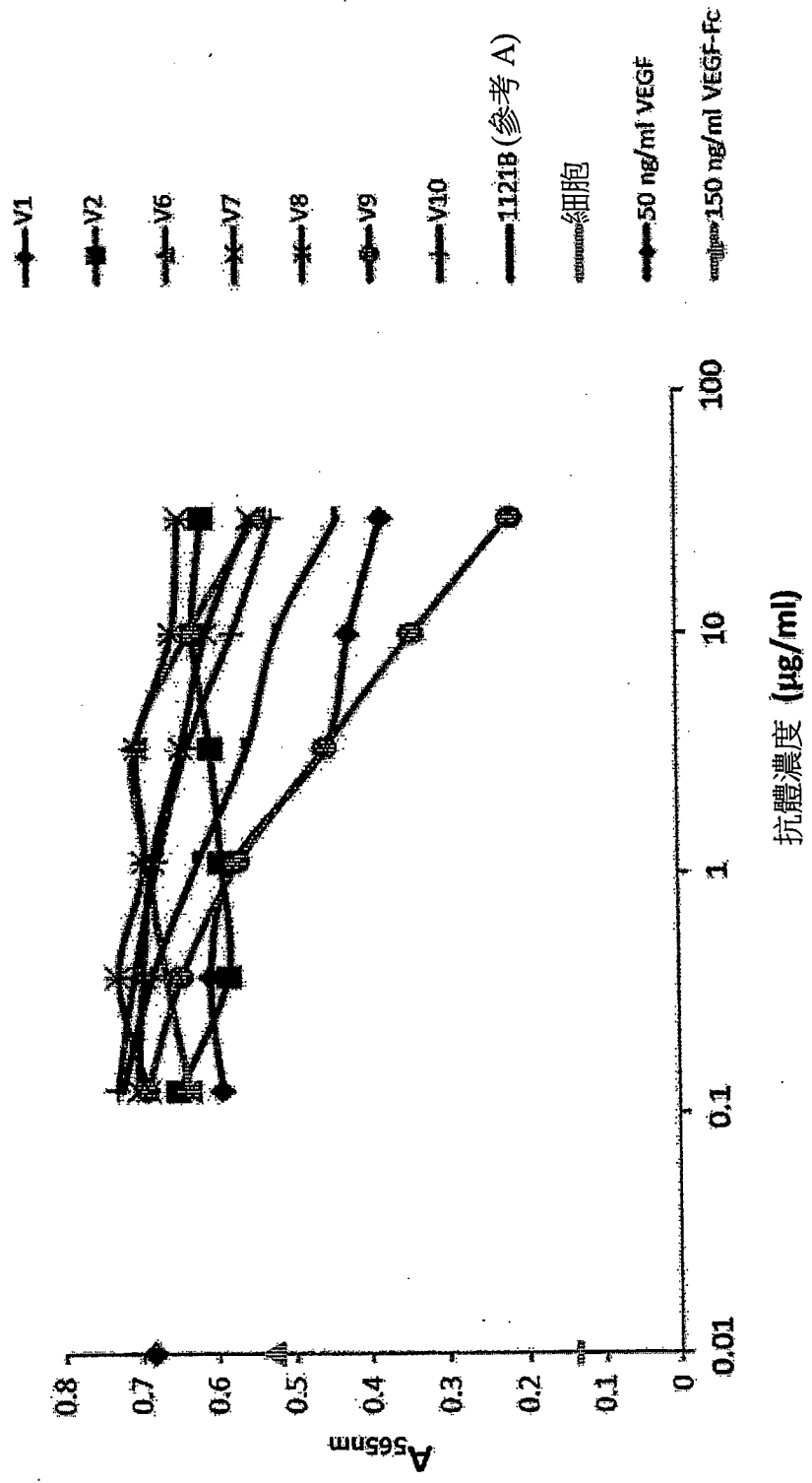


圖 6

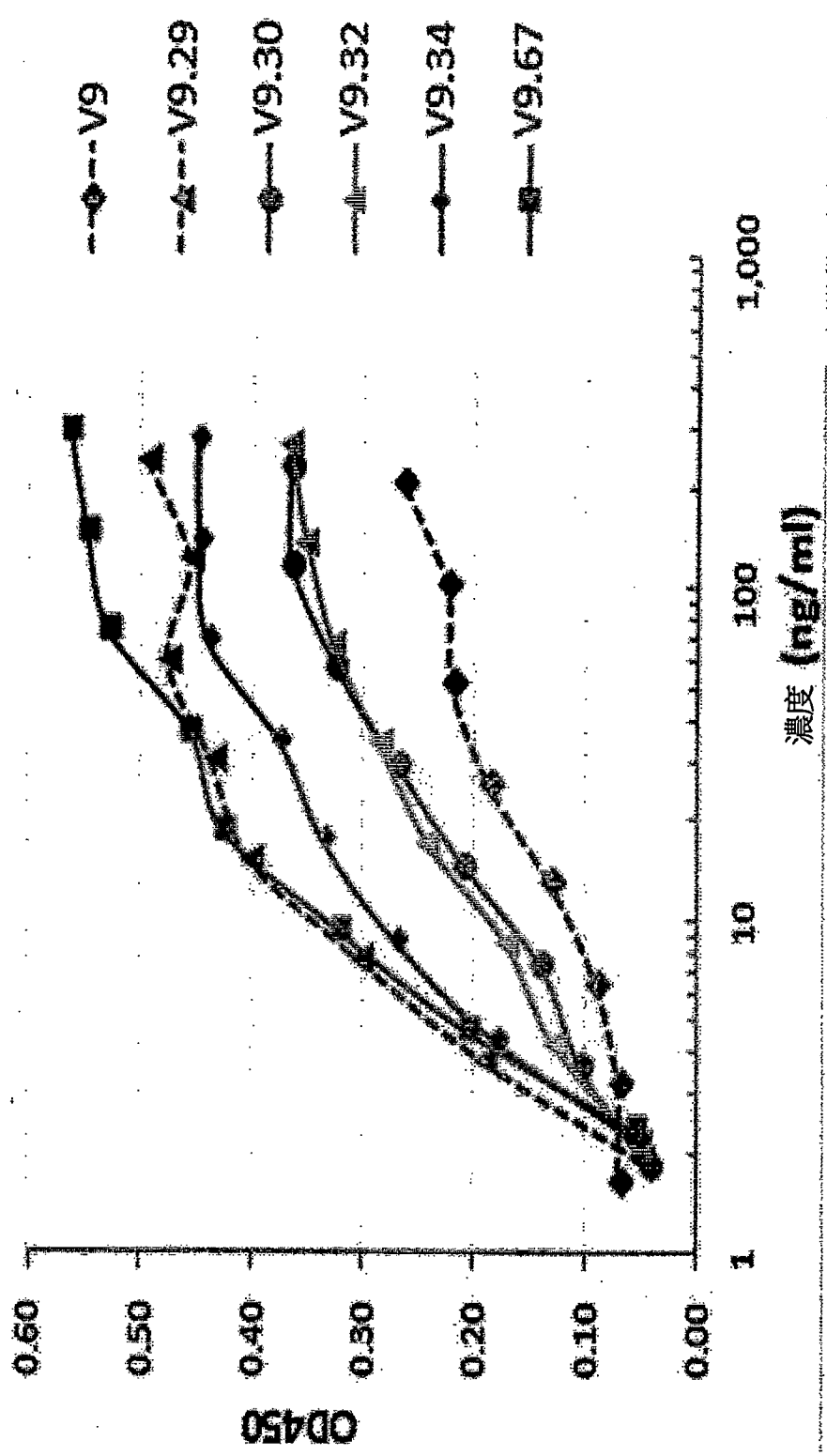


圖 9

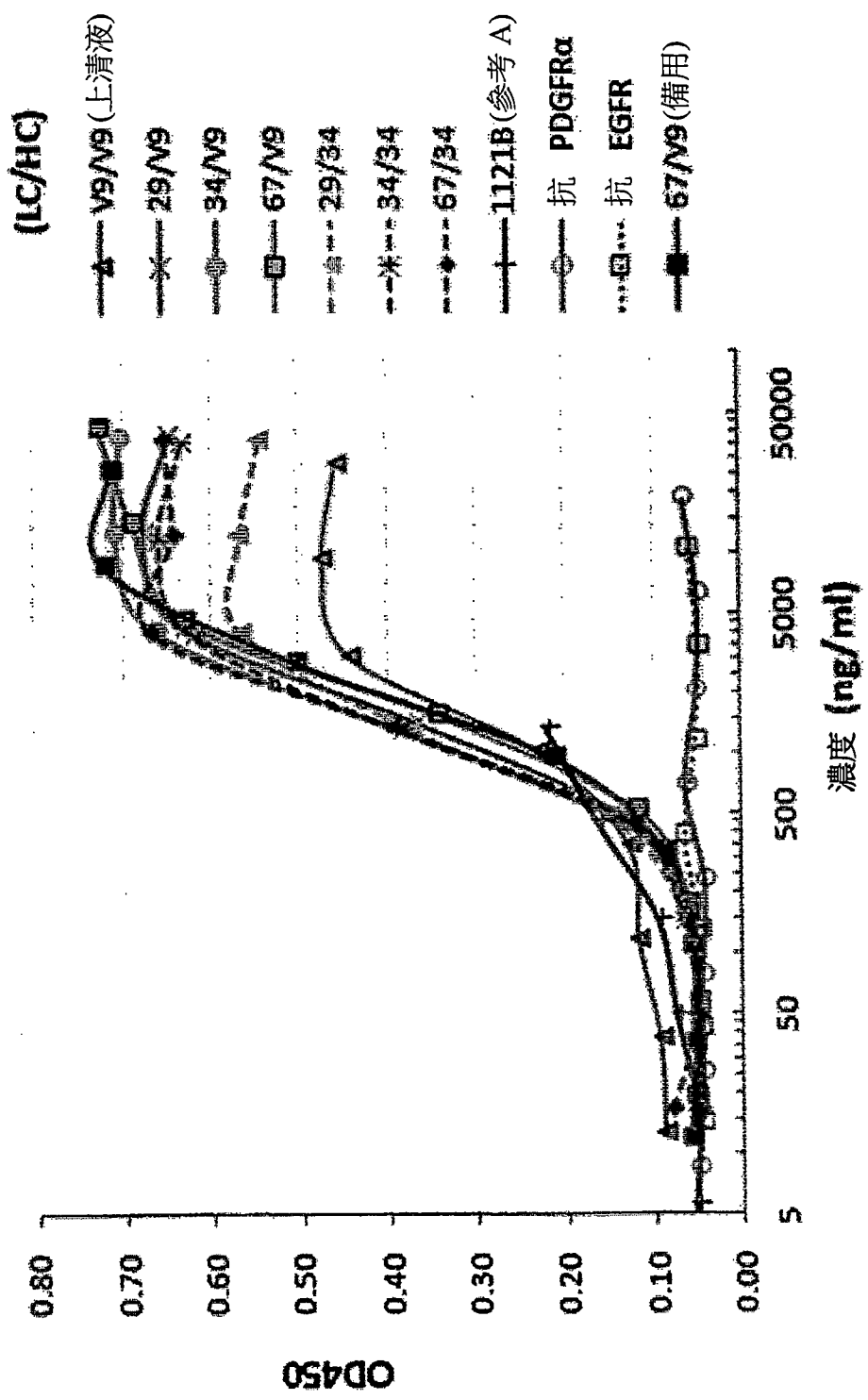


圖 10A

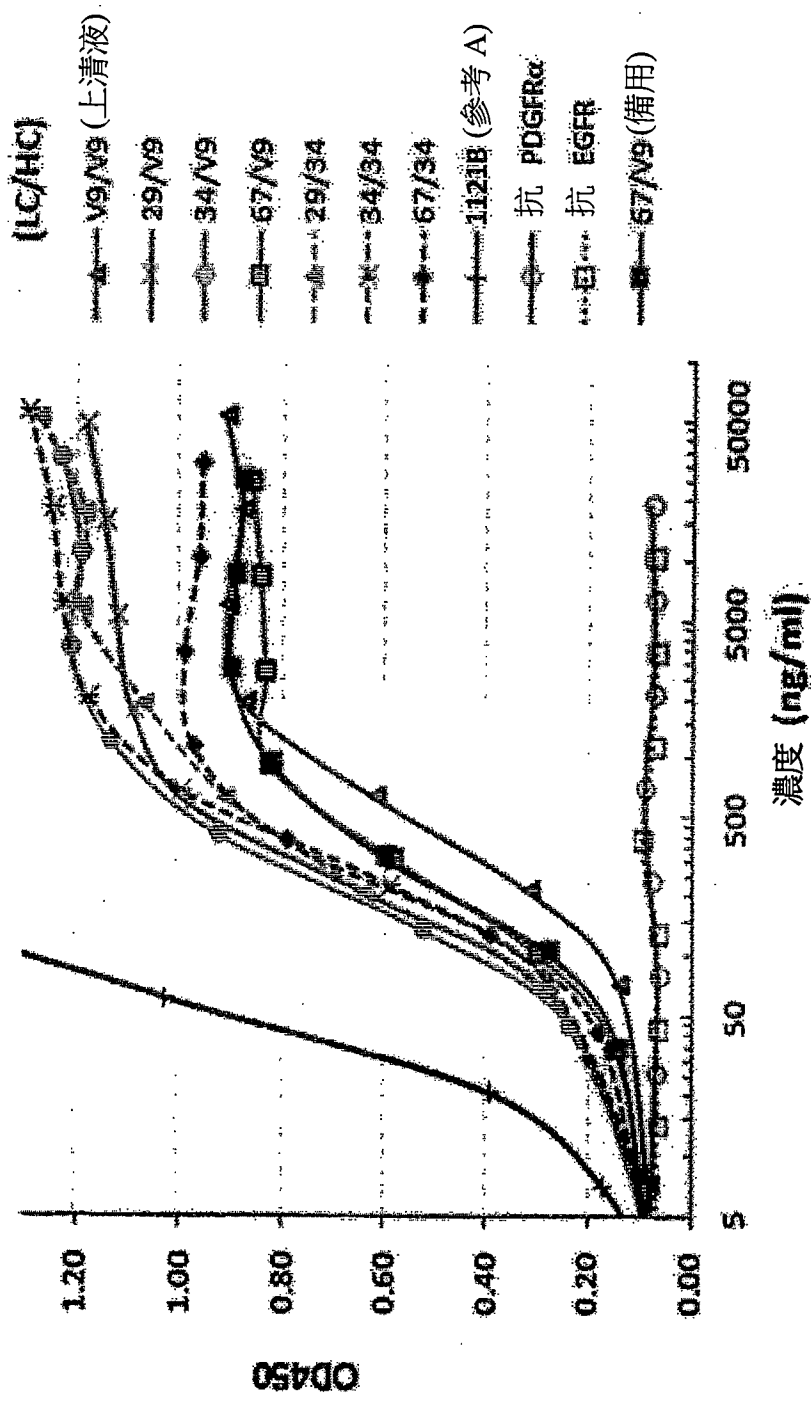


圖 10B

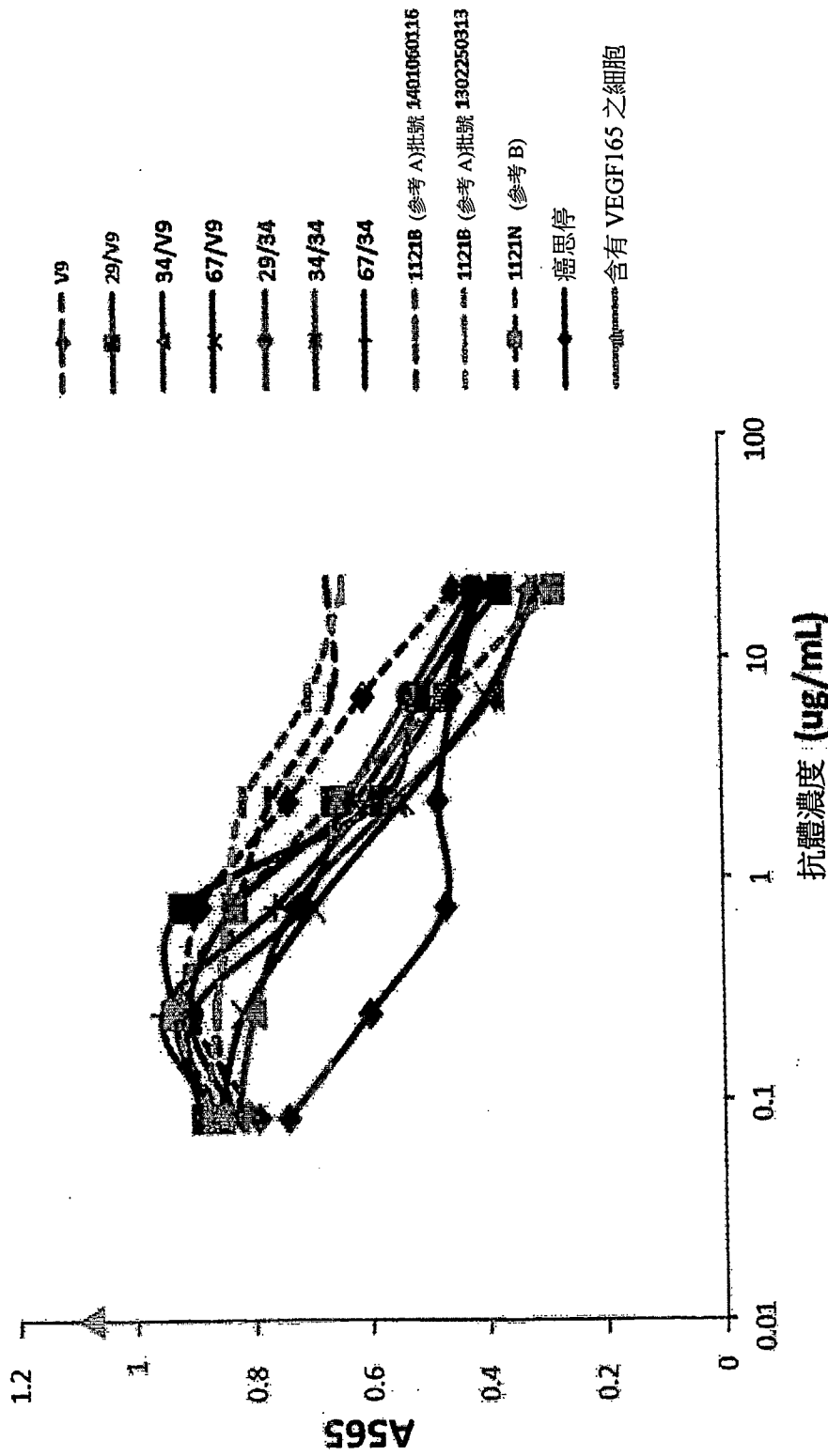


圖 11A

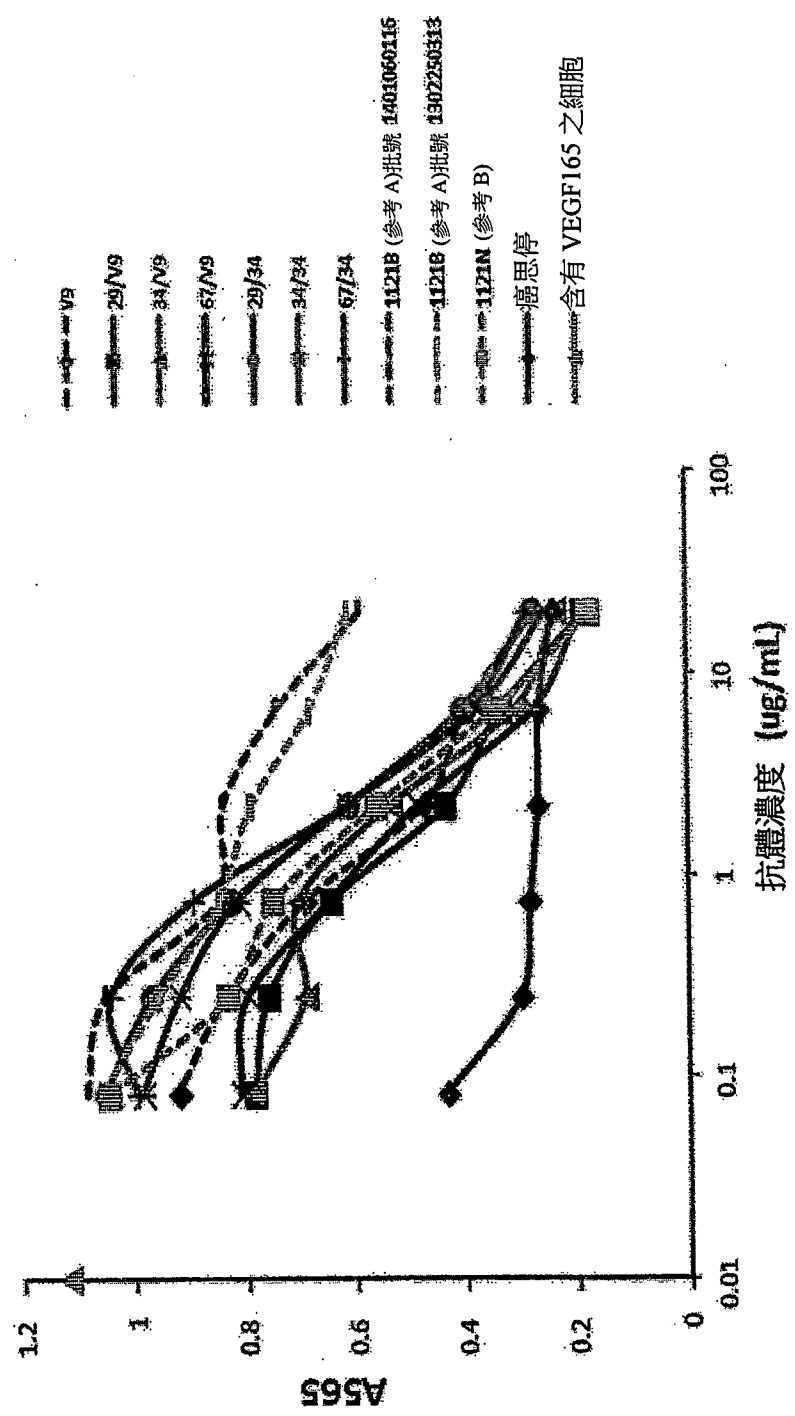


圖 12A

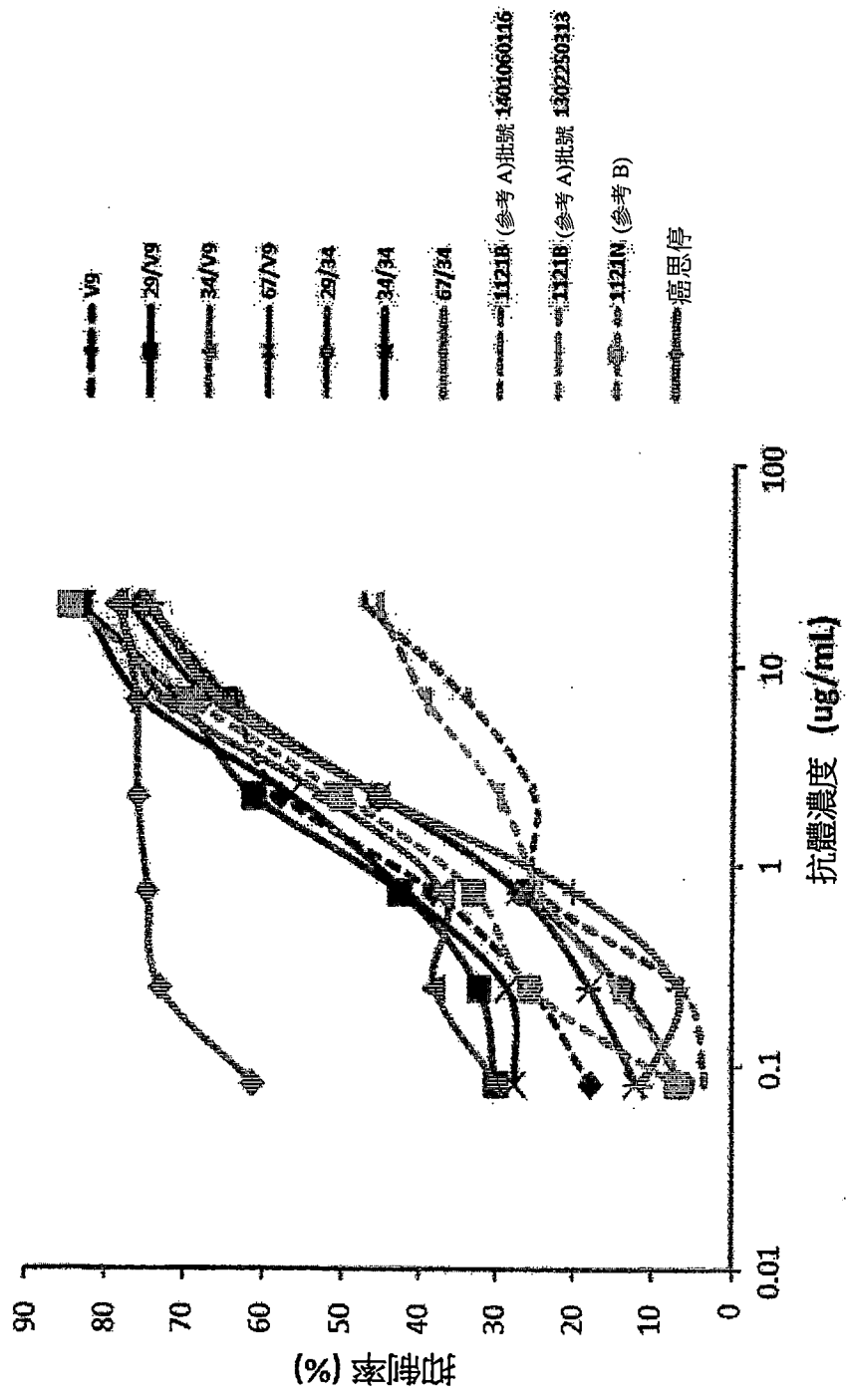


圖 12B

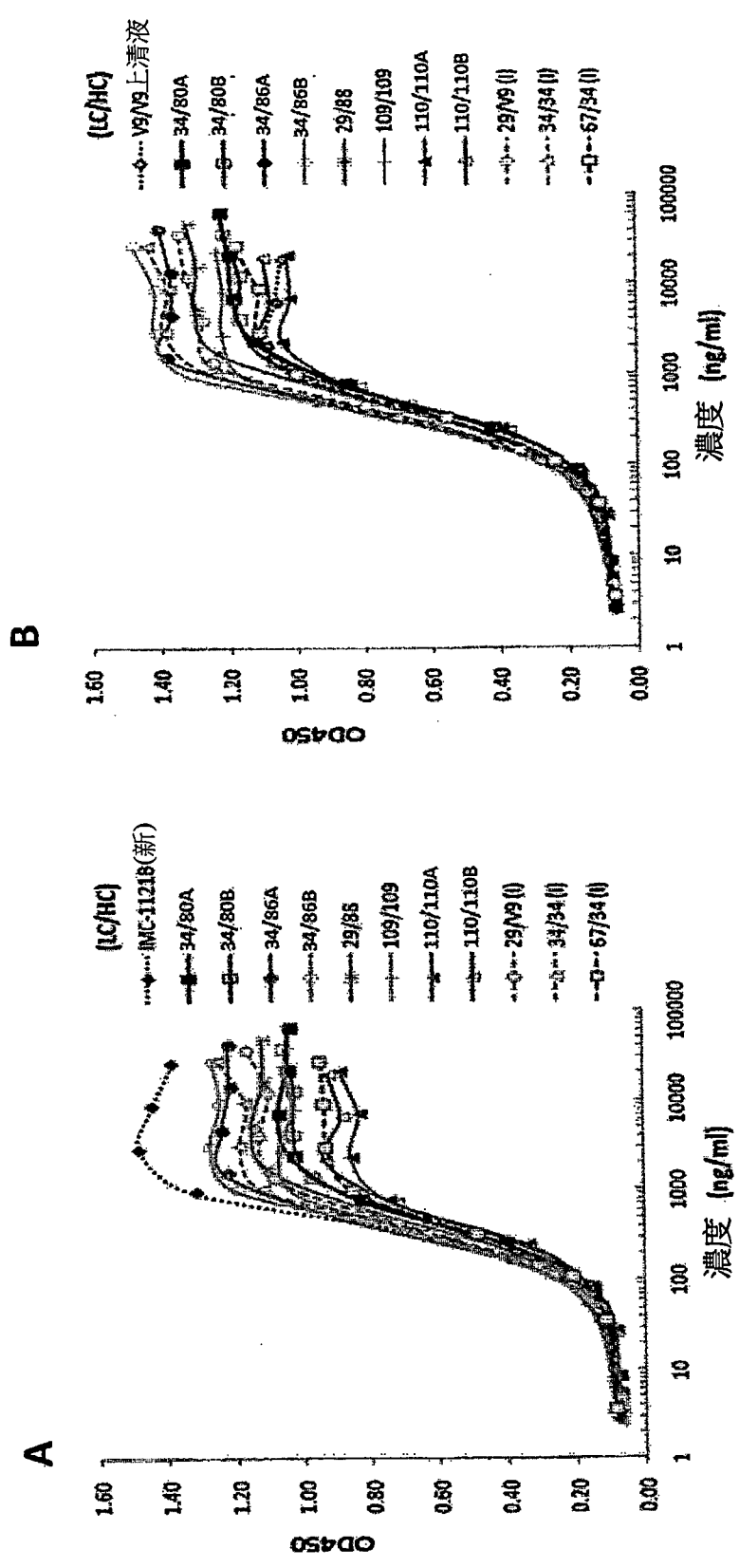


圖 13

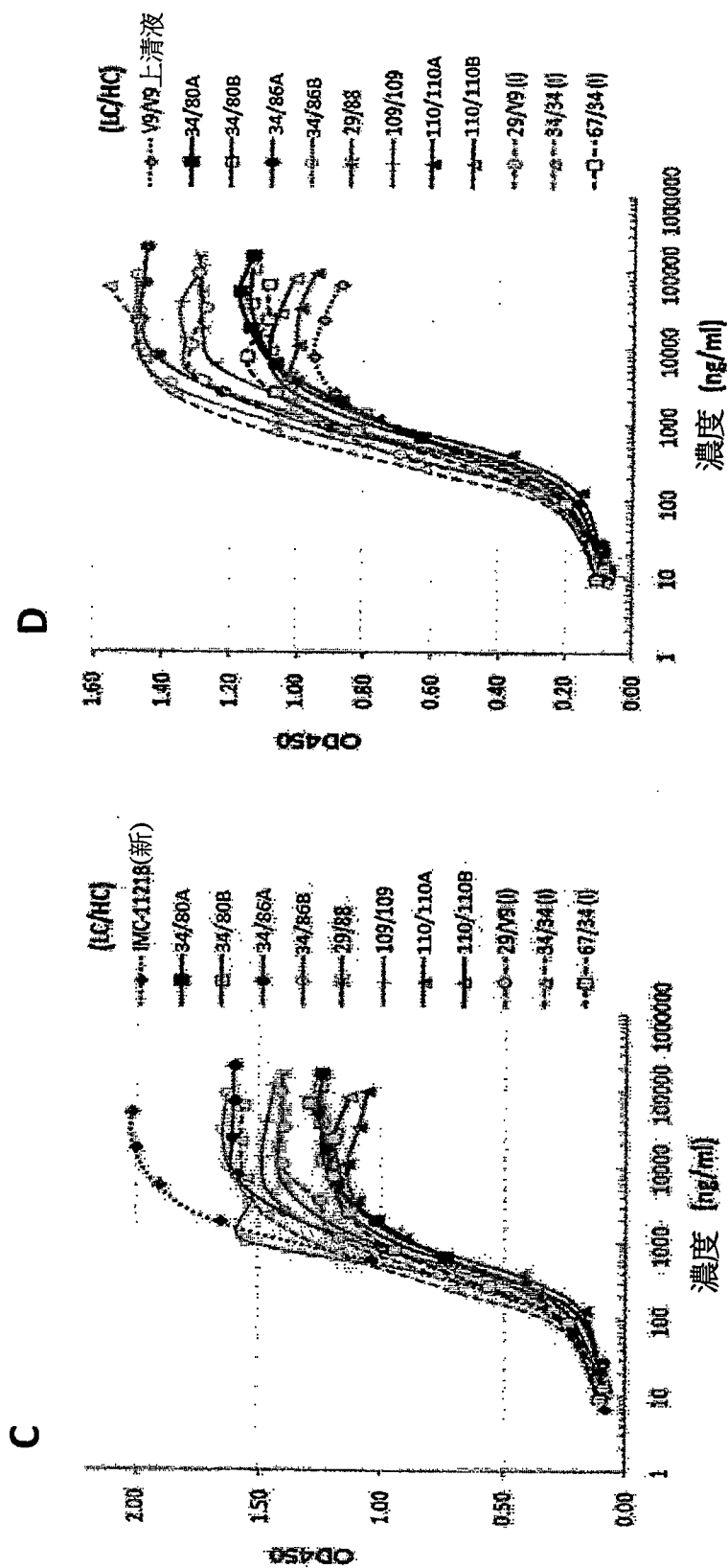


圖 13(續)

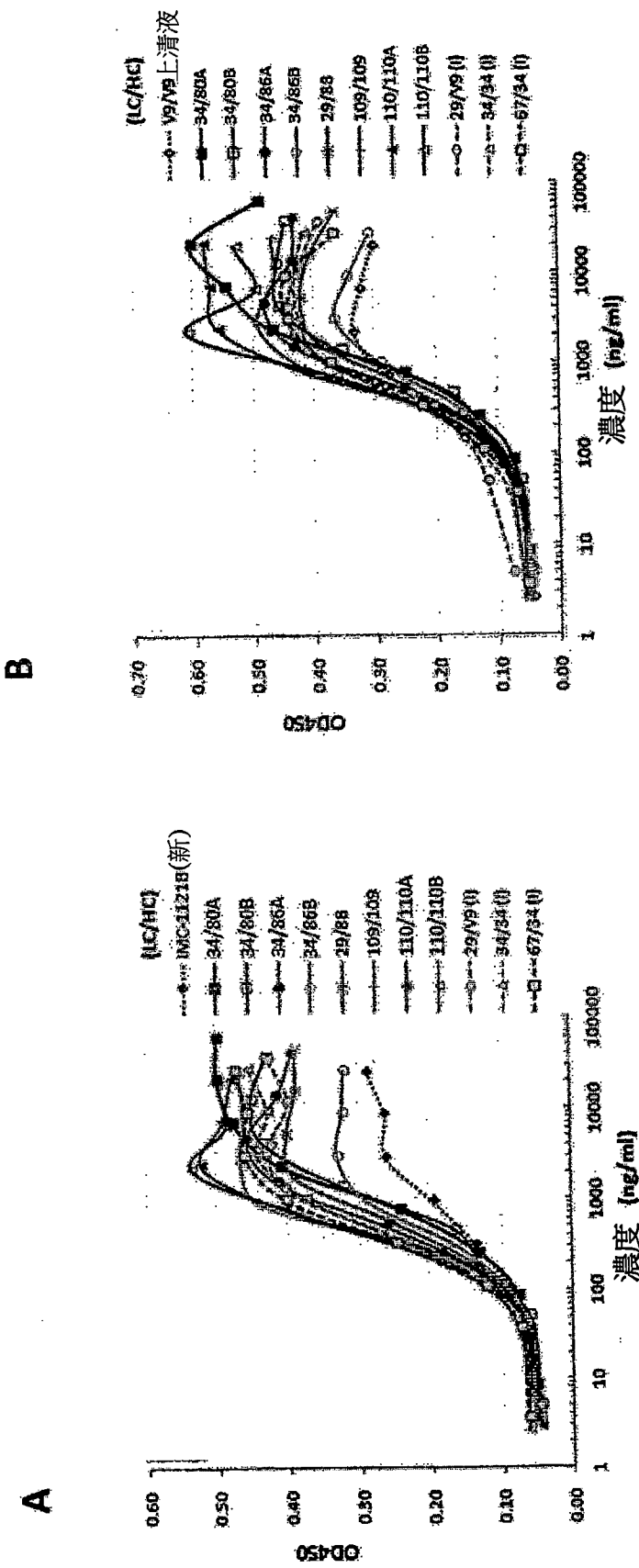


圖 14

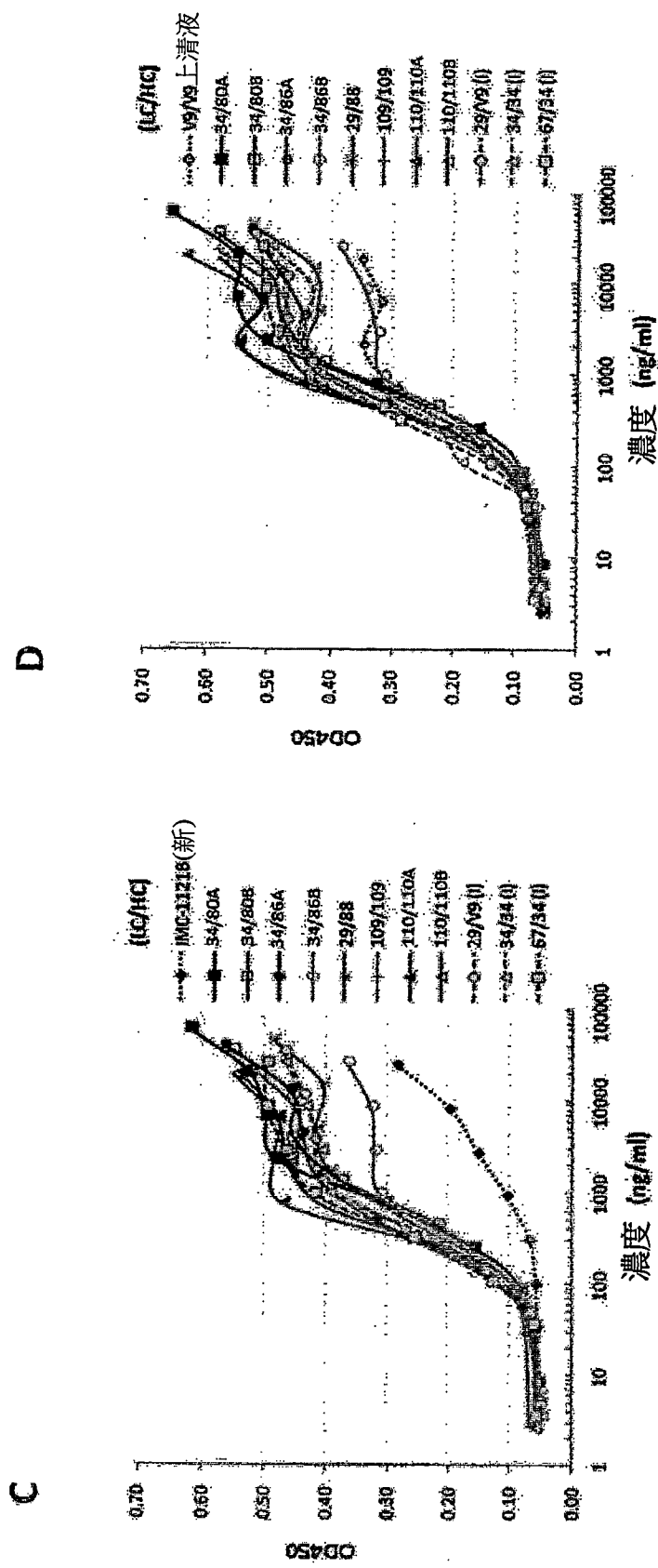


圖 14(續)

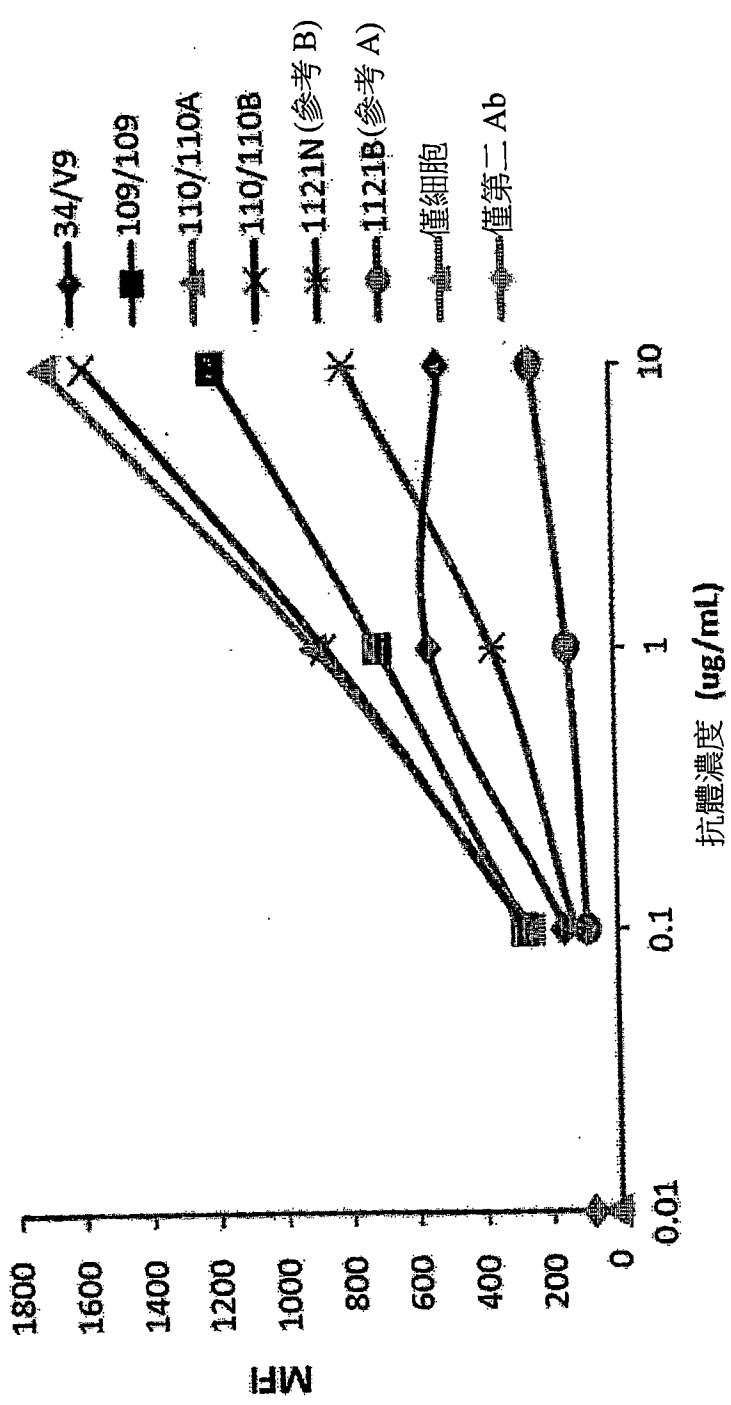


圖 15

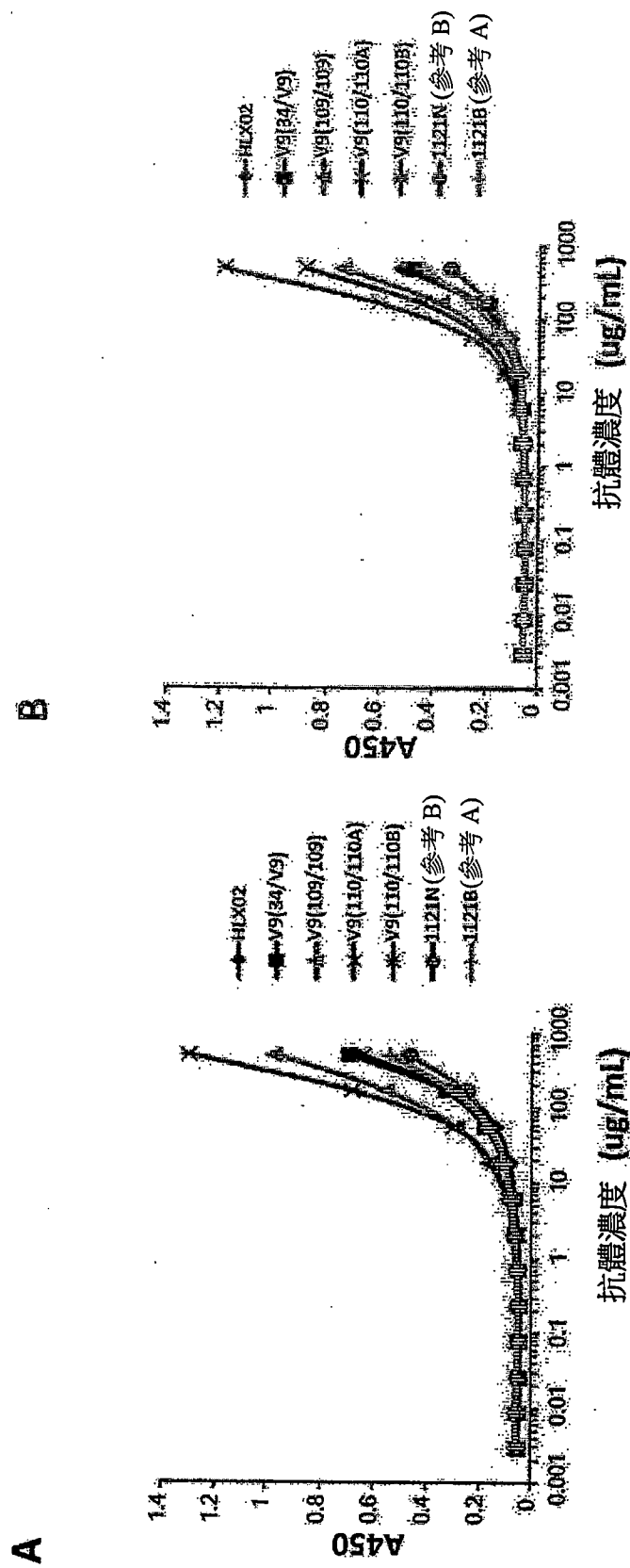


圖 18

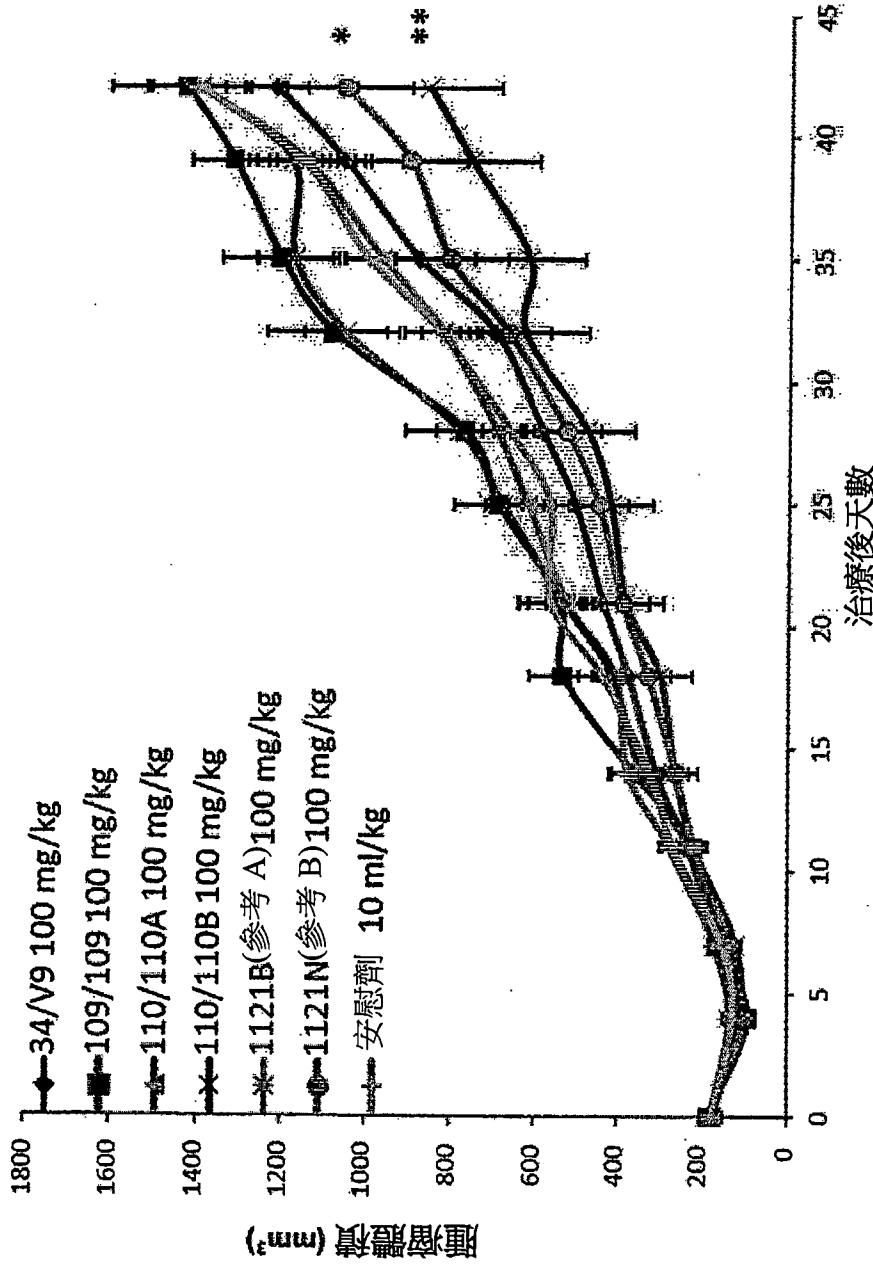


圖 22

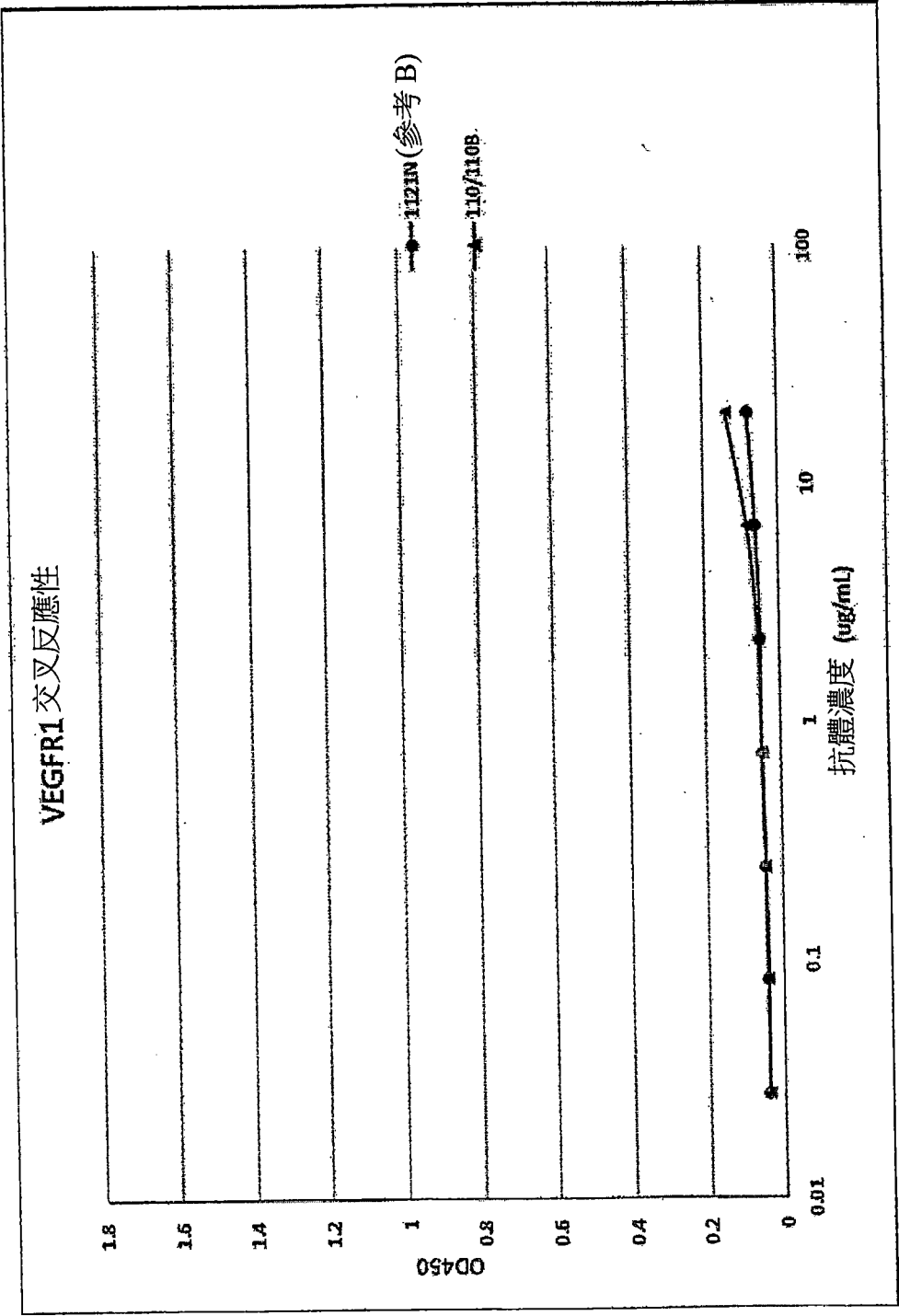


圖 24A

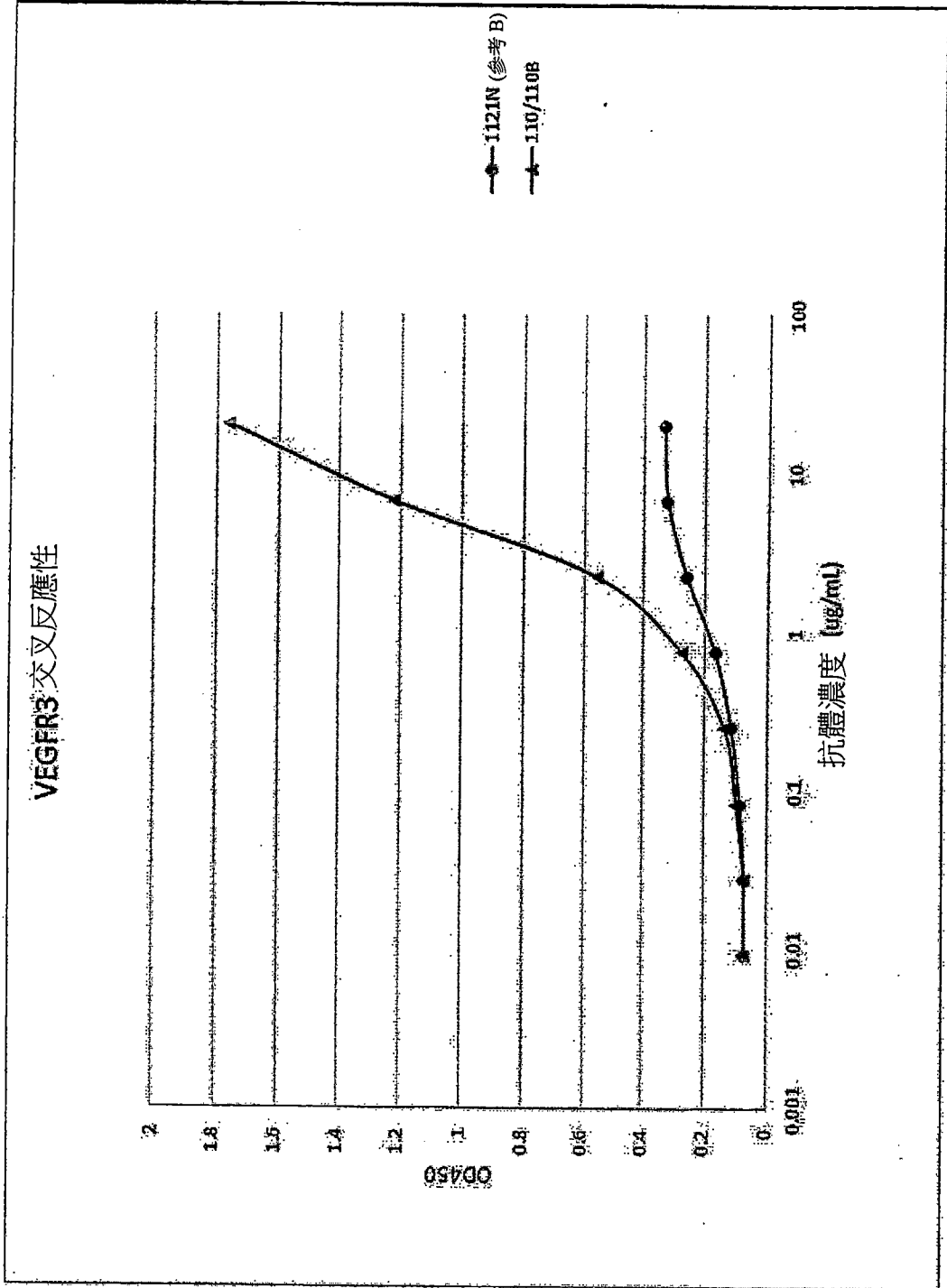


圖 24B

VEGF-C 刺激之 HLEC 增殖分析

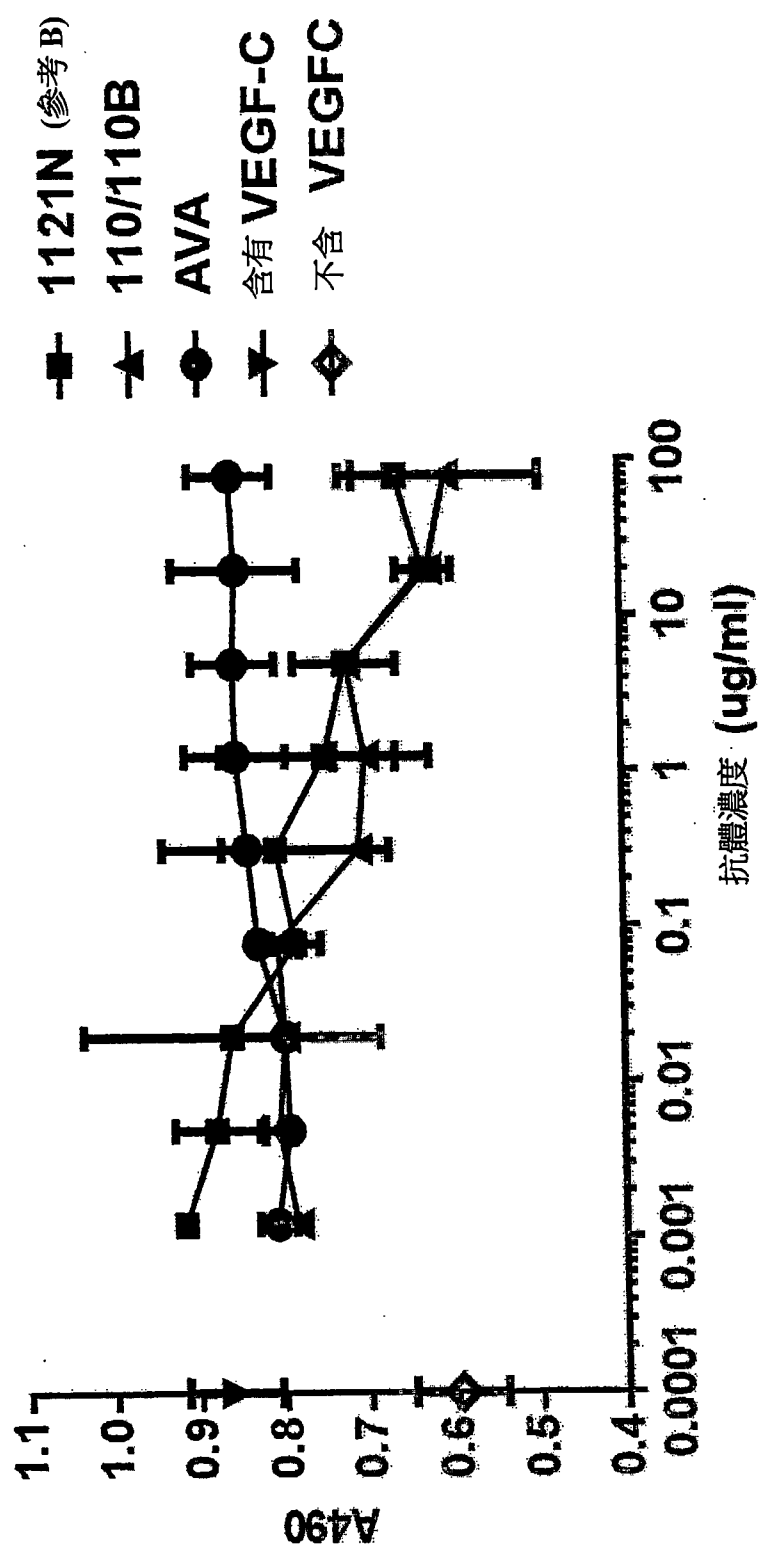


圖 25

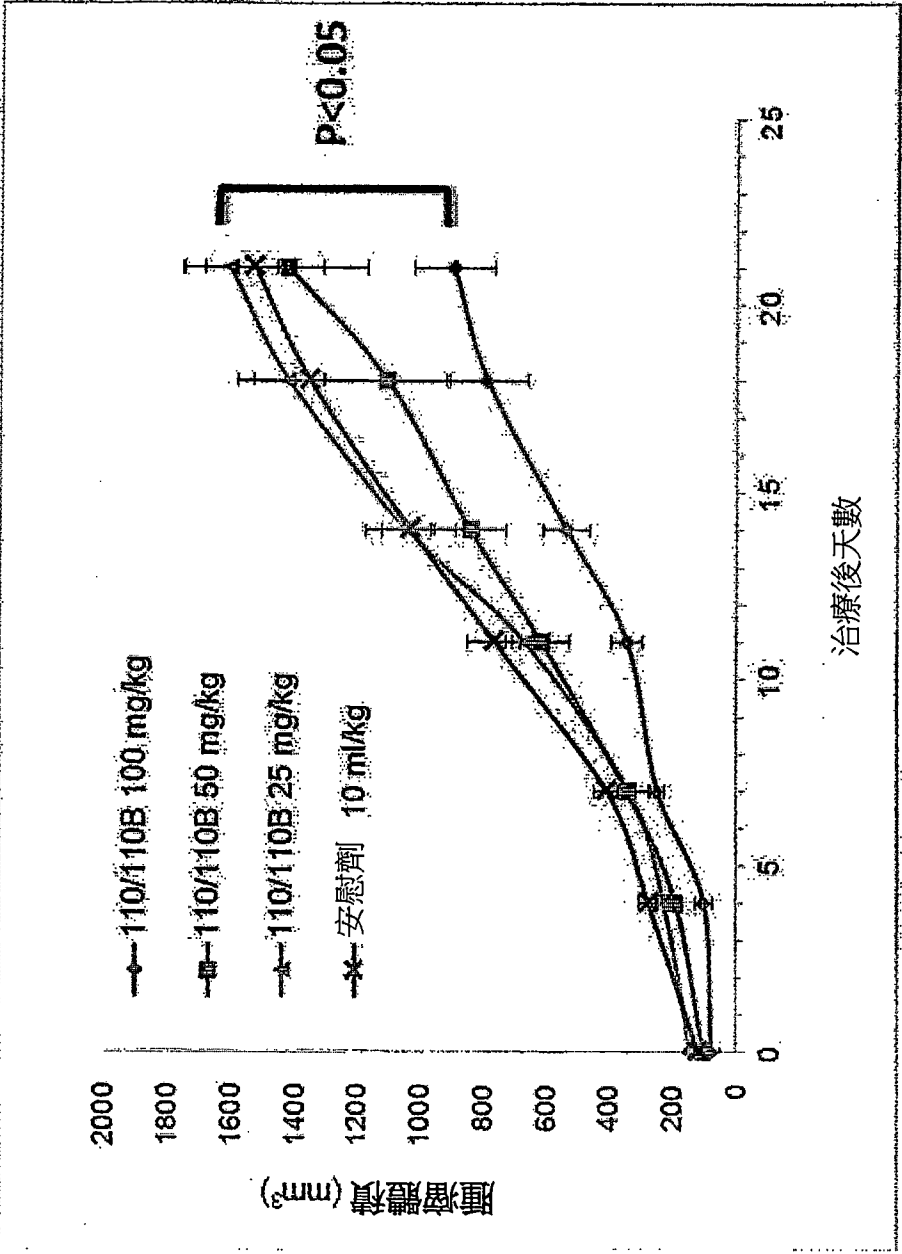


圖 28